EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

ÜBER DIE

GRENZEN DER HEILUNGSMÖGLICHKEIT DES TETANUS DURCH TETANUSHEILSERUM.

HABILITATIONSSCHRIFT

ZUR

ERLANGUNG DER VENIA DOCENDI

EINER

HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT ZU MARBURG

VORGELEGT VON

DR. ANGELO KNORR

ASSISTENT AM HYGIENISCHEN INSTITUT.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

MARBURG.

DRUCK VON C. L. PFEIL.

1895.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554034_0094

Forscht man den Gründen nach, die der Serumtherapie bei Diphtherie allgemeinere Anerkennung und Verbreitung in der ärztlichen Praxis verschafft haben, so wird man finden, dass dieselben in der Hauptsache nicht in der festen experimentellen Grundlage, auf der die neue Therapie von ihrem Schöpfer aufgebaut worden war, zu suchen sind. Nur eine kleine Zahl von Praktikern wurde durch diese Grundlage und vergleichende Übertragung ihrer Resultate auf den Menschen gewonnen. Die Allgemeinheit dagegen wurde erst durch die schlagenden Beweise der grossen statistischen Zahlen dem neuen Mittel geneigt gemacht.

Bei dem Tetanus werden wir voraussichtlich auf diesen Weg zur Einführung der Serumtherapie verzichten müssen. Die Zahl der vorkommenden Fälle ist zu gering und die vor Anwendung des Serums zusammengestellten statistischen Angaben zu wenig zahlreich, um auch bei ausgebreiteter Anwendung der Methode ein so überzeugendes Bild von Verbesserungen der Mortalität erwarten zu können, wie bei Diphtherie. Auch bei Beurtheilung des Einflusses der Therapie im einzelnen Falle liegen die Verhältnisse zum Theil wenigstens ungünstiger wie bei dieser Krankheit. Die eigenen Erfahrungen der einzelnen Beobachter beschränken sich nur auf eine kleinere Zahl von Fällen, dieselben müssen also immer aus der Litteratur ergänzt werden. Es werden daher auch dem besten Beobachter Zweifel über die Sicherheit seiner anfangs gestellten Prognose kommen können. So ist es nicht unverständlich, dass über die Wirkung des Tetanusheilserums auf den erkrankten Menschen die Ansichten sowohl derer, die selbst das Serum erprobt haben, als auch derjenigen, die nur aus den Mittheilungen anderer ihre Kenntniss geschöpft haben, sehr verschieden sind.

Es kann nicht meine Aufgabe sein, über die Berechtigung der oder jener Ansicht aus dem vorhandenen klinischen Material ein Urtheil zu fällen. Dagegen ist es bei der geschilderten Sachlage doppelt wichtig, den Versuch zu machen, ob die experimentelle Grundlage für die Serumtherapie bei Tetanus nicht noch so aus-

gearbeitet werden kann, dass sie nicht allein unwiderleglich die Möglichkeit der Heilung des Tetanus bei den Versuchsthieren darthut, sondern auch gewisse Schlüsse auf die Grenzen der Heilungsmöglichkeit und die beste Art der Anwendung des Serums beim Menschen zu ziehen berechtigt. Es ist zu hoffen, durch Vertiefung der Kenntnisse über die Art und die Bedingungen der Antitoxinwirkung das fehlende statistische Material gewissermassen durch das Material der Thierversuche ersetzen zu können und auch auf diesem Wege das Vertrauen zur Übertragung der Therapie auf den Menschen weiteren Kreisen einzuflössen.

I.

Übersicht über die vorhandenen experimentellen Grundlagen der Heilungsmöglichkeit bei Tetanus.

Wenn wir uns umsehen, was in dieser Beziehung in den letzten Jahren geleistet worden ist, so finden wir statt positiver Resultate nur negative in der Litteratur verzeichnet, und wir stossen auf die merkwürdige Thatsache, dass die Heilungsmöglichkeit bei Versuchsthieren mit der längern Arbeit anderer an Verbesserung des Tetanusheilserums nicht zugenommen, sondern im Gegentheil ausserordentlich abgenommen zu haben scheint. Gleich bei Publikation der grundlegenden Thatsachen der Serumtherapie hatten Behring und Kitasato [1]) bewiesen, dass die Heilung der Versuchsthiere nach Ausbruch der tetanischen Erscheinungen prinzipiell möglich sei. Tizzoni [2]) bestätigte diese Beobachtung, allerdings nur für weisse Ratten. Dagegen konnten Roux und Vaillard [3]) bei Versuchen an empfindlicheren Thieren, Mäusen und Meerschweinchen, und auch an den wenig empfindlichen Kaninchen nicht zu der gleichen Ansicht kommen. In einer an Experimenten ausserordentlich reichen, äusserst mühevollen Arbeit kamen sie zu dem Schluss, dass es nicht möglich sei, irgend welche Versuchsthiere bei einmal ausgebrochenem Tetanus durch das Tetanusheilserum, trotz grosser Dosen und hoher

---

[1]) a. Behring und Kitasato: Über das Zustandekommen der Diphtherieimmunität und der Tetanusimmunität. Deutsche medicinische Wochenschrift 1890. Nr. 49. (1)

b. Kitasato: Heilversuche an tetanuskranken Thieren. Zeitschrift für Hygiene. Bd. 12. 1892. (2)

[2]) Tizzoni und Cattani: L'immunità contro il tétano, studiata negli animali molto recettivi per questa infezione. La Riforma medica 1891. Nr. 183—184. (3)

[3]) Roux et Vaillard: Contribution à l'étude du tétanos. Pasteur Annales. Bd. 7. 1893. (4)

Wirksamkeit desselben, sicher vom Tode zu retten. Kurz vor Veröffentlichung dieser Resultate war es Behring und mir [1]) gelungen, im Anschluss an einen positiven Heilversuch bei weissen Mäusen, [2]) die Bedingungen genau zu präzisiren, unter welchen man bei dieser Thierart und bei Einführung einer einzigen, fertigen Giftdosis, noch positive Resultate erlangen kann. Diese Bedingungen sind in der Arbeit von Roux und Vaillard noch nicht berücksichtigt. Ebensowenig berücksichtigt dieselben Beck in einer in neuerer Zeit erschienenen Arbeit. [3]) Derselbe inficirte Meerschweinchen mit Holzsplittern, an denen giftfreie Tetanussporen angetrocknet waren. Er wählte diese Art, die Krankheit hervorzurufen, desshalb, weil sie dem natürlichen Infektionsmodus beim Menschen am nächsten liege, und die betreffende Thierart, weil die grössere Empfindlichkeit der Meerschweinchen gegen Tetanus ebenfalls den Verhältnissen beim Menschen mehr entspräche, als die der weissen Mäuse, oder gar der Ratten. Übrigens findet sich dieselbe Versuchsanordnung auch schon bei Kitasato (1 b) und bei Roux und Vaillard (3) in den oben angegebenen Arbeiten. Die Resultate der Beck'schen Heilversuche waren vollständig negative.

Ich habe mir nun folgende Aufgabe gestellt:

1. Ist es wirklich nicht möglich, nach Ausbruch der tetanischen Symptome Versuchsthiere vom sichern Tode zu retten. Es war dies zu untersuchen bei den verschiedenen Methoden, die Krankheit hervorzurufen.
2. Ist die Heilungsmöglichkeit bei reiner Intoxikation, das heisst Einspritzung einer einzigen fertigen Giftdosis, grösser oder kleiner als bei Infektion mit wachsthumsfähigen Krankheitserregern, respektive Einführung häufiger kleinerer Giftdosen In welchem Verhältniss stehen beide.
3. Wie liegen die Verhältnisse für die verschiedene Empfindlich-

---

[1]) Behring und Knorr: Über den Immunisirungswerth und Heilwerth des Tetanusheilserums bei weissen Mäusen. Zeitschrift für Hygiene. Bd. 13. 1893. (5)

[2]) Der bereits erfolgte Ausbruch der tetanischen Erscheinungen wurde von unbetheiligter Seite constatirt. Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft zu Berlin 1893. VI. Sitzung. 13. Januar 1893.

[3]) Beck: Experimentelle Untersuchungen über den Tetanus. Zeitschrift für Hygiene. Bd. 19. 1895. (6)

Anmerkung. Alle in der Arbeit angeführten Versuche sind mit demselben Gift (aus Tetanusbouillonculturen durch Ammoniumsulfat zur Ausscheidung gebracht) und demselben Serum (Ziegenserum, in einer grossen Flasche gesammelt und durch Zusatz von 0,25 % Metakresol conservirt) angestellt worden.

keit der uns zunächst zugänglichen Laboratoriumsthiere und welche Gesichtspunkte kommen bei Beurtheilung der Heilungsmöglichkeit verschieden empfindlicher Organismen durch Tetanusheilserum in Betracht.

4. Welche der bis jetzt herrschenden Ansichten über die Art der Wirkung des Gifts und Gegengifts aufeinander, in und ausser dem Organismus entspricht am meisten den experimentellen Thatsachen.
5. Was kann aus den erlangten positiven Resultaten auf die Heilungsmöglichkeit und die günstigste Art der Behandlung des Menschen geschlossen werden und welche Aussichten bestehen, die jetzigen Resultate noch zu verbessern.

II.

Mittheilung positiver Heilerfolge bei Meerschweinchen nach Intoxication und Infection.

Ich will zunächst einige Versuchsreihen mittheilen, die die Möglichkeit, ausgebrochenen Tetanus bei Versuchsthieren zu heilen, beweisen sollen. (Tabelle I.)

Im Versuch Nr. I ist den Thieren eine einzige, fertige Giftdosis unter die Haut gespritzt worden, die Methode, die wir früher immer anwandten, um Aufschluss über den Heilwerth unseres Serums zu erhalten. Nach verschieden langer Zeit wurden die Thiere dann in Behandlung mit dem Heilserum genommen, und zwar mit einer einzigen, nicht wiederholten Dosis. Um zu zeigen, welch wichtigen Einfluss bei dieser Methode die Grösse der Giftdosis ausübt, habe ich drei Reihen von weissen Mäusen, a, b und c neben einander gestellt, in denen die absoluten Giftmengen gleich sind, das Gewicht der Thiere aber verschieden ist, die Höhe der specifischen Minimaldosis also sich ändert. Der zweite Theil dieses Versuchs beweist, dass die Heilung der empfindlicheren Meerschweinchen bei dieser Versuchsanordnung nicht schwieriger ist, als die der weniger empfindlichen Mäuse.

Auch von der Infektion mit wachsthumsfähigen Infektionserregern können diese sehr empfindlichen Thiere geheilt werden. (Versuch Nr. II). Ich habe dabei dieselbe Methode ausgeführt, die Kitasato mit positivem (1, b), Beck mit negativem Erfolg (5) angewandt hat. Den Meerschweinchen wurden Holzsplitter, an denen Tetanussporen angetrocknet waren, unter die Haut gestossen. Das bereits fertige Gift war durch Hitze vernichtet worden. Die Krankheit entstand also durch die continuirliche Aufnahme des erst von den

Infektionserregern bei ihrem Wachsthum neu gebildeten Gifts. Wie die acht Controllen beweisen, führte die Infektion bei den Thieren, die sich selbst überlassen blieben, sicher zum Tode. Die Behandlung wurde bei allen Thieren erst einige Zeit nach Ausbruch der ersten Tetanussymptome eingeleitet. Der Versuch ergab, dass noch lange nach diesem Zeitpunkt eine Rettung durch das Heilserum möglich war, um so sicherer, je früher die Thiere in Behandlung gekommen waren.

Selbstverständlich kann diese Art, die Tetanuserkrankung hervorzurufen, keine ganz gleichmässigen Resultate geben. Denn es ist trotz aller Sorgfalt nicht möglich, die Thiere völlig gleichmässig zn inficiren. Die Anordnung des Versuchs Nr. III soll diese Mängel ausschalten, dem prinzipiellen Unterschied zwischen der Einführung einer einmaligen, fertigen Giftdosis und der ständigen Giftzufuhr beim Wachsthum der Infektionserreger aber möglichst Rechnung tragen. Desshalb spritzte ich den Thieren eine gewisse, nach ihrer Wirkung als Einzeldosis genau bekannte Giftmenge täglich ein. Verschieden lange Zeit nach Ausbruch der Tetanuserscheinungen wurde dann wieder mit der Heilserumbehandlung begonnen, ohne dass die Gifteinspritzungen dabei weggelassen wurden. (Analog dem Zurückbleiben der Splitter bei dem vorhergehenden Versuch.) Natürlich wurden die Einspritzung des Gifts und die des Serums an möglichst von einander entfernten Punkten gemacht. Erst wenn sich deutliche Besserung im Befinden der Thiere zeigte, wurde mit beiden Injektionen zugleich aufgehört. Nur in zwei Fällen, am Ende des Versuchs unter 5. Gruppe angeführt, nahmen nach Aufhören der Antitoxineinspritzungen die Gifteinspritzungen noch ihren Fortgang, analog dem Fall, dass trotz Weiterleben der Infektionserreger mit der Therapie ausgesetzt wird.

Die Resultate dieses Versuchs sind, glaube ich noch schlagender, als die des vorangegangenen.

Bei einigermassen frühem Beginn der Behandlung nach Ausbruch der Erkrankung war es möglich, auch sehr rapid verlaufenden Tetanus (erste Erscheinungen innerhalb 24 Stunden, Tod am 4. Tage) zu heilen. Dabei ist bei dieser Versuchsanordnung eine Täuschung nicht möglich, da es sich um genau bekannte Schwere der Erkrankung handelt.

Aus den gesammten drei Versuchen geht hervor, dass sowohl bei einmaliger Vergiftung, als auch bei Infektion, geraume Zeit nach Ausbruch der tetanischen Erscheinungen auch sehr empfindliche Versuchsthiere von einer absolut tötlichen Tetanuserkrankung geheilt werden können.

III.

Ursachen der Misserfolge anderer Autoren.

Es muss auffallen, dass diese Resultate so sehr verschieden sind von den von Roux und Vaillard erreichten, und besonders von den von Beck publicirten. Diese Verschiedenheit kann entweder in der Dosirung der Erkrankung oder in der des Heilmittels begründet sein. Wie schwer vor allem Unterschiede in der Giftmenge ins Gewicht fallen, wurde in der bereits oben zitirten Arbeit (4) gezeigt. Es verhält sich, nach den damaligen Untersuchungen, schon eine Viertelstunde nach der erfolgten Einführung des Gifts in den Körper, die zur Heilung nöthige Serummenge nicht gleich der Höhe der Giftdosis. Vielmehr wächst sie mindestens in geometrischer Progression. Es ist somit für die 100fache Giftdosis nicht 100mal soviel Serum nöthig, sondern 10000mal so viel. Und je längere Zeit nach der Intoxikation die Einspritzung des Serums erfolgt, desto grösser wird dieses Missverhältniss.

In Berücksichtigung dieser Thatsache ist es nun leicht begreiflich, dass, wenn man seiner Giftdosis nicht sicher ist und den Thieren der gleichen Versuchsreihe verschieden grosse Giftmengen einführt, man sehr ungleiche Resultate bekommen muss. Dabei ist der Willkür des Experimentirenden ein grosser Spielraum offen gelassen. Bei einiger Übung ist es leicht möglich, aus kleinen Unterschieden im Anwachsen der Erscheinungen bei solchen Thieren, die mit nicht genau bekannten Giftdosen krank gemacht sind, die leichtere oder schwerere Erkrankung zu diagnosticiren. Je nachdem man nun die scheinbar nur ganz geringen Verschiedenheiten dazu benutzt, die Controllthiere zu wählen, wird man glänzende, oder sehr schlechte Resultate erzielen können. Diesen Gefahren kann man natürlich leicht entgehen, wenn man eine ausserordentlich schwere Intoxikation oder Infektion anwendet, wie das Beck gethan hat. Dann wird auch bei nicht bekannten Giftmengen, sicher kein Controllthier mehr am Leben bleiben. Man wird aber auch auf positive Resultate von vorn herein verzichten müssen und wird auf diese Weise selbstverständlich nie ein Bild von der Kraft des zu prüfenden Serums gewinnen. Es handelt sich eben bei der Wirkung des Serums, sei es bei Tetanus oder Diphtherie, immer um quantitative Beziehungen zwischen Gift und Gegengift.

Da also bei der Infektion der Thiere mit wachsthumsfähigen Krankheitserregern es mit der grössten Sorgfalt nur annähernd möglich ist, die Krankheit für eine Anzahl Thiere gleich schwer zu gestalten und es auch nicht möglich ist, diese Schwere der Erkrankung

einigermassen genau zu bestimmen, so ist diese Versuchsanordnung nur im Stande, über die prinzipielle Möglichkeit oder Unmöglichkeit der Heilung der natürlichen Infektion zu entscheiden, nicht aber einen Schluss auf die Grenzen dieser Möglichkeit zu ziehen. Und diese prinzipielle Entscheidung ist eben schon durch die Kitasatoschen Versuche in positivem Sinne erbracht worden.

IV.

Genaue Giftwerthbestimmung bei verschiedenen Thierarten, ermöglicht durch Constanz der Giftlösungen.

Will man also Versuche anstellen, die Anspruch auf Werth machen, so muss man genau über die angewandte Giftmenge und ihre krankmachende Kraft bei verschiedenartiger Einführung und bei verschieden empfänglichen Organismen orientirt sein. Das war früher mit viel Aufwand an Sorgfalt und Mühe verknüpft. Kitasato[1]), welcher uns bekanntlich zuerst lehrte, das Tetanusgift von den lebenden Infektionserregern zu trennen und mit dem Gift allein alle Symptome des Tetanus bei Thieren auszulösen, hat schon darauf hingewiesen, dass das Gift in seinen Lösungen höchst labil sei. Durch alle möglichen chemischen und physikalischen Einflüsse wurde es in den Culturen, den gewöhnlichen Lösungen, zum Verschwinden gebracht. Es gelang ihm mit aller Sorgfalt nicht, eine Cultur auf ihrem ursprünglichen hohen Giftwerth zu erhalten. Dieses Gleiten des Giftwerths wirkte natürlich auf die Sicherheit der Versuche höchst ungünstig ein.

Da war es als wesentlicher Fortschritt zu begrüssen, dass Buchner[2]) in zielbewusster Weise durch Fällung mit Ammoniumsulfat eine gifthaltige Substanz zu gewinnen lehrte, welche in trocknem Zustand ihren Giftwerth unbegrenzte Zeit stabil erhält.

Die Möglichkeit, giftige Substanzen aus Culturen mittelst Ammoniumsulfat zu bekommen, war schon früher von Brieger und Fränkel[3]) erwähnt worden.

Das Bedürfniss nach sicher ihren Giftgehalt bewahrenden Lösungen blieb jedoch bestehen. Ich pflege seit geraumer Zeit die Constanz meiner Giftlösungen dadurch zu erhalten, dass ich zu

---

[1]) Kitasato: Experimentelle Untersuchungen über das Tetanusgift. Zeitschrift für Hygiene. Bd. 10. 1891. (7)

[2]) Buchner: Über Bakteriengifte und Gegengifte. Münchner medicinische Wochenschrift 1893. Nr. 24 und 25. (8)

[3]) Brieger und Fränkel: Untersuchungen über Bakteriengifte. Berliner klinische Wochenschrift 1890. Nr. 11 und 12. (9)

denselben Chlornatrium [1]) zusetze. Schon in der Menge von 1 bis 2 % hindert dasselbe einen Giftverlust bei Zimmertemperatur oder im Eisschrank vollständig. Gewöhnlich setze ich 10% Kochsalz zu, da sich dadurch die Lösungen unter gewöhnlichen Verhältnissen auch steril erhalten.

Doch bewahren die Salzlösungen die Giftconstanz nicht unter allen Verhältnissen. Behring [2]) hat in seinem Buche: „Infektion und Desinfektion" darauf aufmerksam gemacht, dass die Empfindlichkeit des Gifts zum Beispiel gegen höhere Temperaturgrade nur eine relative ist, abhängig von dem Medium, in welchem sich das Gift befindet. Verändert man also dieses Medium, so ist vor allem zu prüfen, wie sich das Gift nun gegen die Einflüsse, denen man es aussetzen will, verhält. Versäumt man diese Controlle, so wird man den schwersten Irrthümern zum Opfer fallen können. Auch ist sehr davor zu warnen, aus irgend welchen theoretischen Gründen a priori Schlüsse zu ziehen. Zum Beispiel musste, nach der von Buchner (8) geäusserten Ansicht über die dissociirende Wirkung des salzarmen und die conservirende Kraft des salzreichen Wassers in der Wärme, das Gift in kochsalzreichen Lösungen weniger empfindlich gegen Erhitzung sein. Das Experiment lehrt gerade das Gegentheil. Selbst Brutschranktemperatur setzt den Giftgehalt von kochsalzreichen Culturen viel rascher herab, als von sonst gleichartig zubereiteten kochsalzarmen Culturen. Erwärmung auf 55° wirkt auf kochsalzreiche Lösungen ebenso stark ein, wie Erwärmung auf 65° auf kochsalzarme Lösungen. Auch der Zusatz von Carbolsäure oder verwandter Körper zum Zweck der Sterilerhaltung der Lösungen ist zu vermeiden. Die Carbolsäure wirkt, wie ich fand, schon bei einem Gehalt von 0,5 % bei Anwesenheit von viel Kochsalz sehr energisch giftzerstörend.

Bei Vermeidung dieser Einflüsse aber bleiben, wie gesagt, die kochsalzreichen Lösungen völlig constant in ihrem Giftwerth.

Weiter ist für unsere Prüfungen wichtig die Stärke des Gifts. Wenn auch dieser Punkt vor allem für die Immunisirungshöhe der grossen Thiere zum Zweck der Serumgewinnung von entscheidender Bedeutung ist, so brauchen wir doch auch für die vorliegenden Zwecke möglichst hochwerthige Lösungen. Die Gewinnuug hoher Giftwerthe durch möglichst günstige Cultivirung der Tetanusbacillen

---

[1]) Auch andere Salze, zum Beispiele Ammonium-Chlorid, wirken ähnlich.

[2]) Behring: Infektion und Desinfektion. Thieme 1894. Siehe Einleitung und Seite 165. (10)

hat bis jetzt keine grossen Fortschritte gemacht. Schon Kitasato (6) besass Culturen, von denen 0,000005 ccm eine weisse Maus tötete.

Brieger [1]) gab in jüngster Zeit den Werth seiner unter besondern Cautelen zubereiteten Culturen in derselben Durchschnittshöhe an. Auch meine Culturen haben im Durchschnitt keinen höheren Giftwerth erreicht. Man kann wohl durch Zusatz von 1 bis 2 % Kochsalz zu den Culturen höhere Werthe erhalten, muss aber dann die Culturen sehr bald auf niedrigere Temperaturen als 37° stellen, weil sonst das fertige Gift aus oben erörterten Gründen zu sehr Schaden leidet.

Man ist also zur Erreichung sehr starker Gifte darauf angewiesen, dieselben zu concentriren.

Als die beste Concentrationsmethode für praktische Zwecke wird diejenige bevorzugt werden müssen, welche nicht allein in möglichst wenig Volumen möglichst viel Gift gibt, sondern auch eine gute quantitative Ausbeute gestattet. Beide Bedingungen erfüllt die oben erwähnte Fällung mit Ammoniumsulfat. Bei sorgfältiger Behandlung erhält man stets Trockenpulver in quantitativ durchaus befriedigender Menge, von denen 0,0000001 gr eine Mittelmaus sicher tötet. Fällt man das Gift zweimal, so kommt man leicht zu Trockenpulvern, deren tötliche Dosis für eine Mittelmaus höchstens 0,00000004 ist.

Will man diese Werthe erreichen, so darf man allerdings die Tetanusculturen vor der Fällung nicht filtriren. Man hat dann den Übelstand, dass man die Tetanussporen in lebendem Zustand mit in den Niederschlag bekommt. Dies ist an und für sich völlig gleichgültig, da dieselben ohne irgend ein Hülfsmittel im Körper ja nicht auswachsen und desshalb ihre Anwesenheit absolut keine Änderung des Intoxikationsverlaufs bedingt. Doch kann man sie auch leicht entfernen. Löst man den Ammoniumsulfatniederschlag mit Wasser auf, so bekommt man anfangs eine homogen trübe Flüssigkeit, aus der sich nach kurzer Zeit grosse Flocken zu Boden senken.

Dieser Bodensatz ist in mancher Beziehung interessant. Er enthält fast alle noch vorhandenen geformten Elemente, ist giftig und hält das Gift sehr fest. Wäscht man ihn mit Wasser lange genug aus, so wird man im Waschwasser kein Gift mehr nachweisen können, während der emulsionirte, oder mit 1 % Sodalösung gelöste und filtrirte Bodensatz noch ganz erhebliche Mengen Gift enthält

---

[1]) Brieger: Weitere Erfahrungen über Bakteriengifte. Zeitschrift für Hygiene. Bd. 19. 1895. (11)

(Tabelle II. Versuch Nr. I). Eine ähnliche Beobachtung haben Vaillard und Vincent[1]) schon gemacht, indem sie den Bodensatz einer Tetanuscultur auswuschen. Es handelt sich offenbar um das aus den Bakterienleibern noch nicht ausgetretene Gift. Diese Giftmengen sind aber nur ganz geringe Bruchtheile des gesammten in Lösung befindlichen Gifts, und es ist ihr Verlust an der Gesammtmenge nicht zu constatiren (Tabelle II. Versuch Nr. II).

Die über diesem Bodensatz stehende, nach kurzer Zeit völlig klare Flüssigkeit ist nun fast völlig steril (Tabelle II. Versuch Nr. III). Dekantirt man sie und fällt sie noch einmal mit Ammoniumsulfat, so erhält man ein ganz steriles Präparat.

Die oben angegebenen Werthe der durch die Ammonsulfatmethode hergestellten Trockenpulver erreichen auf einfache Weise die Erfolge complicirter Methoden, ohne die kolossalen Verluste dieser zu ergeben.

Es liegt für mich also vorläufig kein Grund vor, von der bewährten Methode abzugehen. Anders verhält es sich natürlich, wenn man das Tetanusgift möglichst reinigen will. Versuche in dieser Richtung gehören nicht in den Rahmen vorliegender Arbeit.

Die Möglichkeit, sehr hochwerthige constante Lösungen zu erhalten, hat nun die Genauigkeit der Giftprüfung bei Tetanus ausserordentlich erhöht, so dass sie die der Diphtheriegiftprüfung, bei welcher von Anfang an viel weniger Schwierigkeiten zu überwinden waren, erreicht hat. Bei der Wichtigkeit gerade der genauen Giftprüfung für die vorliegenden Untersuchungen möge es mir gestattet sein, die wichtigsten in Frage kommenden Punkte zu recapituliren.

Es ist in Betracht zu ziehen: Die specifische Empfindlichkeit des Organismus. Dieselbe ist, wie bekannt, verschieden bei den verschiedenen Thierarten. Innerhalb derselben Thierart schwankt sie bei normalen, nicht kranken und nicht vorbehandelten Individuen, wenigstens bei den von mir näher untersuchten Laboratoriumsthieren in sehr engen Grenzen. Einen merkbaren Einfluss hat nur das Alter der Thiere. Mit zunehmendem Alter nimmt die Empfindlichkeit etwas ab.[2])

Das Gift wird auf das Körpergewicht des Thieres berechnet. Man geht von der für ein bestimmtes Körpergewicht und eine

---

[1]) Vaillard et Vincent: Contribution à l'étude du tétanos. Pasteur Annales 1891. (21)

[2]) Wenn nichts besonders bemerkt ist, handelt es sich immer um die Empfindlichkeit von Mittelthieren: Mäuse im Gewicht von etwa 17 gr, Meerschweinchen von etwa 250—350 gr, Kaninchen von etwa 1500—2000 gr.

spezifische Empfindlichkeit sicher tötlichen Minimaldosis aus, und kann dann für alle Thiere, bei denen diese beiden Faktoren bekannt sind, die Menge der Minimaldosen einer gewissen Giftdosis leicht bestimmen.

Ich habe in Tabelle III alle Controllthiere zusammengestellt, die im Laufe der Zeit für das in vorliegender Arbeit verwendete Tetanusgift gebraucht worden waren. Die Zusammenstellung soll zeigen, wie scharf bestimmbar die Grenze der sicher tötlichen Minimaldosis bei allen drei Thierarten ist. In Entlehnung eines Brauchs bei der Diphtheriegiftbestimmung nenne ich dieses nun genau bestimmte, unveränderliche Gift: „Test-Gift."

Die Minimaldosis (Min.-Dos.) meines Test-Gifts, auf 1 gr Körpergewicht der Thiere berechnet, oder der Giftwerth (G. W.) ist: 1:150 Millionen für weisse Mäuse; 1:1000 Millionen für Meerschweinchen; 1:1 Million für Kaninchen. Oder für jedes Gramm Körpergewicht von weissen Mäusen brauche ich 150mal mehr Tetanusgift, für jedes Gramm Körpergewicht von Meerschweinchen brauche ich 1000mal mehr, als für jedes Gramm Körpergewicht von Kaninchen, um sicher den Tod zu veranlassen.

Ich möchte hier darauf aufmerksam machen, dass die gleiche Anzahl von Minimaldosen jede der drei Thierarten auch in der annähernd gleichen Zeit tötet, und dass bis zum Auftreten der ersten Erscheinungen annähernd die gleiche Zeit verstreicht. Dies gilt nur von sicher tötlichen Giftdosen. Die Reaktion auf kleinere Giftdosen ist bei den drei Thierarten völlig verschieden und scheint gerade das widerstandsfähigste Thier, das Kaninchen, die grösste Empfindlichkeitsbreite zu haben.

Ferner gilt das oben gesagte nur von der subcutanen Einführung des Gifts. Bringt man dasselbe auf andere Weise in den Organismus, zum Beispiel durch intraperitoneale oder intravenöse Einspritzung, so bleibt wohl die zum Tode nöthige Giftmenge dieselbe, die Zeitdauer und der Verlauf der Erkrankung aber ändern sich. Besonders die intravenöse Einspritzung bedingt eine charakteristische Veränderung. Die Incubationszeit bleibt ziemlich dieselbe, dann aber treten ganz plötzlich die heftigsten Erscheinungen auf, die Höhe des Krankheitsbildes ist in kürzester Zeit erreicht und auch der Tod tritt in kürzerer Zeit ein, wie bei der subcutanen Injektion derselben Giftmenge.

Sind nicht besondere Gründe vorhanden, so wird, wegen ihres typischen Verlaufs immer die subcutane Infektion zu wählen sein.

V.

Genaue Werthbestimmung des Antitoxingehalts eines Serums durch Mischung mit grossen Giftmengen und Bestimmung des völligen Ausgleichs der Mischung. — Heilwerthbestimmung.

Erst nachdem man sich genau über den Werth seines Test-Gifts orientirt hat, ist es möglich, an genaue Werthbestimmung der Antitoxinlösungen zu denken. Es wurde früher von Behring und mir (4) diese Prüfung so angestellt, dass das antitoxinhaltige Serum 24 Stunden vor dem Gift eingeführt wurde, und dann festgestellt wurde, welche Menge desselben im Stande ist, weisse Mäuse vom Tode an einer genau bekannten Giftdosis zu retten. (Immunisirungswerthbestimmung).

Dieses Verfahren gibt wohl genügend genaue Resultate in der Hand eines und desselben Experimentators, der alle Voraussetzungen immer in derselben Weise erfüllen kann. Für Vergleiche der Angaben verschiedener Experimentatoren hat es sich jedoch nicht als genügend gezeigt. Der Hauptmissstand besteht darin, dass die specifische Empfindlichkeit der verschiedenen in Verwendung gekommenen Thiere Unterschiede bedingt, die durch diese Prüfungsart nicht ausgeglichen werden. Schon bei möglichst gleichmässig gewählten Thieren gibt die Bestimmung des Todes keine scharfe Grenze, da dabei die individuelle Widerstandskraft des Einzelthiers bis zu einem gewissen Grad in Betracht kommt. Diese Ungleichheit wird nun sehr erheblich gesteigert, wenn verschiedene Thierarten, eventuell auch nur verschiedene Rassen zu den Versuchen benützt werden. Ferner spielen in dem Zeitraum von 24 Stunden schon Ausscheidungsverhältnisse des Serums eine Rolle, die bei verschiedener Höhe der angewandten Minimaldosen nicht vernachlässigt werden dürfen.

Es handelte sich also zunächst darum, diese Zufälligkeiten möglichst auszuschalten und einen festen, leicht zu fixirenden Punkt zu finden, durch den der Serumwerth für alle Verhältnisse bestimmt ist. Dieses Verlangen befriedigt die von Behring und Ehrlich für die staatliche Diphtherie-Antitoxinprüfung eingeführte Methode. Dabei wird bekanntlich die Serummenge bestimmt, die dem Gift zugemischt, eben noch jede Spur von Giftwirkung einer genau bekannten Giftmenge aufzuheben vermag.

Dieselbe Prüfungsweise können wir auf den Tetanus übertragen.

Während aber bei Diphtherie die kleinsten Spuren von Giftwirkung durch das Gefühl bei Betastung leicht erkannt werden, sind wir bei Tetanus auf die Constatirung dieser Spuren durch den

Gesichtssinn angewiesen. Dieselben werden daher viel leichter verborgen bleiben können. Man muss sie also gewissermassen vergrössern, um sie sichtbar zu machen. Das ist möglich durch Einführung einer möglichst hohen Giftdosis. Treten dann bei Mischung mit antitoxinhaltigem Serum keine Tetanuserscheinungen mehr auf, so kann man ziemlich sicher sein, keine überschüssigen Giftreste mehr zu haben. Wenn aber noch Giftreste vorhanden sind, so wirken dieselben in höchst verschiedener Weise je nach der Empfindlichkeit des einzelnen Individuums. Sie können sehr stark giftig wirken, zum Beispiel bei hohen Giftdosen auf empfindliche Thiere, oder im Gegentheil immunisirende Einflüsse ausüben, zum Beispiel bei weniger empfindlichen Thieren.

Bekommt man dagegen bei irgend einer Thierart, zum Beispiel den weissen Mäusen, auch bei sehr hohen Giftdosen keine Erscheinungen mehr, hat man also für diese Thierart das Gift vollständig unschädlich gemacht, so bekommt man auch bei viel empfindlicheren Thieren, den Meerschweinchen keine Gifterscheinungen. Bleibt man mit dem Antitoxinzusatz nur wenig unter dieser nöthigen Menge, so treten nicht nur bei Mäusen und Meerschweinchen Erscheinungen von Tetanus auf, sondern auch bei den viel unempfindlicheren Kaninchen. Die Wirkung dieser unausgeglichenen Mischungen ist um so grösser, je empfindlicher das Thier und je höher die angewandte Minimaldosenmenge ist. Nehmen wir also den Punkt des völligen Aufhörens jeder Giftwirkung einer Mischung, so schalten wir die Empfindlichkeit des Organismus vollständig aus und haben es nur mehr mit dem Verhältniss zwischen Gift und Antitoxin zu thun. Zugleich geht von selbst aus diesen Thatsachen hervor, dass das empfindlichste Thier das feinste Reagens auf etwaige Giftspuren bildet.

Diese Erörterungen sollen durch die Versuche der Tabelle IV erläutert werden. Im Versuch Nr. I ist Gift und Serum in festen Verhältnissen gemischt worden und ohne Rücksicht auf Körpergewicht oder specifische Empfindlichkeit den drei Thierarten eingespritzt worden. Stand die Serummenge zur Giftmenge im Verhältniss von 3,3 zu 1, so traten bei keiner der drei Thierarten Erscheinungen auf. War aber bloss 2 Theile Serum zu 1 Theil Gift zugesetzt worden, zeigten alle drei Arten deutliche Tetanussymptome. Der Tod der Versuchsthiere dagegen konnte bei Meerschweinchen schon von 2,5 Theilen Serum nicht mehr verhindert werden, bei

Mäusen von 2 Theilen und bei Kaninchen erst von 1,7 Theilen Serum auf 1 Theil Gift.

Um möglichst genau zu verfahren, hätte ich den Kaninchen auch dieselbe Menge der ihrer specifischen Empfindlichkeit entsprechenden Minimaldosen geben müssen, wie den andern Thieren. Das ging aber in dem betreffenden Fall über den Giftwerth des Test-Gift hinaus. Ich habe desshalb in dem Versuch Nr. II derselben Tabelle viel weniger Gifteinheiten verwendet, den Thieren aber das gleiche Multiplum der für sie geltenden Minimaldose eingespritzt. Die Resultate sind dieselben, wie in Versuch Nr. I. Die Menge Serum, die eine bestimmte Giftmenge unschädlich macht, ist für alle drei Thierarten die gleiche, die Menge, die den Tod verhütet, aber nicht.

Der Versuch Nr. III soll noch die Verschiedenheit der zur Immunisirung gegen verschieden hohe Giftmengen nöthigen Serummenge illustriren. Man sieht, dass bei kleiner Giftmenge das Serum weniger leistet, als bei grösserer. Wie oben schon erwähnt, führe ich dies auf die Ausscheidungsverhältnisse zurück. Während der 24 Stunden, welche das Serum im Körper verweilt, wird sicher schon ein Theil desselben ausgeschieden. Es ist nicht anzunehmen, dass die absolute Menge dieses ausgeschiedenen Serums sehr verschieden sein wird, je nachdem man viel oder wenig Antitoxineinheiten in demselben Flüssigkeitsquantum eingeführt hat. Als Bruchtheil der gesammten Antitoxinmenge wird daher dieser ausgeschiedene Theil um so mehr in Betracht kommen, je geringer der Antitoxingehalt war.

Ich möchte noch auf einen weitern Punkt, der in den Versuchen dieser Tabelle zum Vorschein kommt, aufmerksam machen. Je empfänglicher ein Thier ist, desto rascher verlieren sich die Krankheitserscheinungen nach Überstehen des Tetanus. Am schnellsten kehrten die Meerschweinchen zum normalen Zustand zurück, am langsamsten die Kaninchen. Es scheint, als ob die Erregung, die durch das Gift gesetzt wird, da am leichtesten ausklingt, wo sie am leichtesten hervorgebracht wird.

Die im vorliegenden Theil ausgeführte Prüfung des in der Arbeit zur Verwendung gekommenen Serums ergibt also einen Mischungswerth von 3,3 Theilen Serum zu 1 Theil unseres trockenen Test-Gifts. Löst man von diesem Test-Gift 1 Gramm zu 33,3 ccm 10% Kochsalzlösung, so hebt 0,1 ccm des Tetanusheilserums in Mischung die giftigen Eigenschaften von 1 ccm der constanten Giftlösung gerade vollständig auf. Wir

haben eine der Berechnung des Diphtherienormalgifts und Normalserums analog hergestellte constante Tetanusnormalgiftlösung und ein Tetanusnormalheilserum.[1]) Das Normalgift enthält hier allerdings nicht bloss 10 Giftminimaldosen, wie das Diphtherienormalgift, sondern etwa 100000 Minimaleinheiten für Meerschweinchen von 250 gr; 300000 Minimaleinheiten für weisse Mäuse von 15 gr; 20 Minimaleinheiten für Kaninchen von 1500 gr.

Welche Leistungsfähigkeit besitzt nun dieses Tetanusnormalserum als Heilserum? Eine Prüfung dieser Eigenschaft ist bereits in dem Versuch Nr. I, der Tabelle I gegeben. Doch dauert es bei dieser Versuchsanordnung sehr lange, bis die endgültige Entscheidung gefallen ist. Auch sind die Resultate nicht sehr gleichmässig. Ich möchte deshalb noch zwei Modifikationen anführen, die viel rascher und präciser eine Bestimmung des Heilwerths gestatten. Dieselben gehen von der Voraussetzung aus, dass das sichtbare Auftreten der tetanischen Erscheinungen keinen Einfluss auf die Grösse der nothwendigen Heilserummengen ausübt, sondern dass diese nur bedingt ist durch die Höhe der eingeführten Giftdosis und die Zeit, die seit der Einspritzung derselben verstrichen ist. Dass das wirklich so ist, wurde früher schon durch eine Reihe von Versuchen festgestellt. Demnach ist es völlig gleichgültig, zu vergleichenden Werthbestimmungen, ob man den Ausbruch der tetanischen Erscheinungen abwartet oder nicht. Man gibt also einfach eine abgemessene Menge Gift und Heilserum, und beobachtet, wie lange Zeit nach der Vergiftung es noch möglich ist, die Thiere zu retten. Oder man nimmt die Giftmenge und die Zeit, die seit der Einführung des Gifts verstrichen ist, als fest an und prüft, wie viel von dem Serum nöthig ist, um zu dieser Zeit noch die Thiere zu retten.

Der oben in Tabelle I angeführte Versuch I befolgt erstere Methode, aber mit sehr kleiner Giftmenge. Bei dem Versuch Nr. I der Tabelle V ist eine grössere Menge Gift angewandt, die Entscheidung tritt deshalb viel rascher und präciser ein. In Versuch Nr. II derselben Tabelle ist dann die zweite Art der Prüfung durchgeführt.

Aus beiden Versuchen geht hervor, dass dieselbe Erkrankungsschwere bei einfacher Intoxikation um so leichter zu heilen ist, je empfindlicher das Thier

[1]) Vergleiche Behring: „Infektion und Desinfektion“ (10). Seite 164. Das von mir definirte Normalgift entspricht etwa einem Zehntel Normalgift Behring. Das antitoxinhaltige Serum entspricht der dort definirten Normalantitoxinlösung ziemlich genau (etwas stärker).

ist. Es scheint eben auch bei Anwendung des Antitoxins nach der Vergiftung die nöthige Antitoxinmenge nicht in direktem Verhältniss zur Schwere des Krankheitsbilds, sondern im Verhältniss zur krankmachenden Ursache, der Giftmenge zu stehen.

VI.

Einfluss continuirlich eingeführter, genau bestimmter Giftdosen auf verschiedene Thierarten: Über- und Unterempfindlichwerden des Individuums.

Dies gilt allerdings nur bei Einführung einer einmaligen Giftdosis. Bei Infektion liegen die Verhältnisse viel complicirter. Wie uns die Arbeiten über Immunisirung bei den verschiedensten Krankheiten gelehrt haben, ruft die Einführung von Gift eine specifische Reaktion des Körpers hervor. Behring wies zuerst darauf hin, dass diese Reaktion zunächst zweierlei Effekte haben könne, entweder eine Immunisirung, das heisst ein Unterempfindlichwerden des Körpers gegen das Gift, oder den entgegengesetzten Effekt, ein Überempfindlichwerden desselben. Besonders letzteren Faktor zieht er heran zur Erklärung der quantitativen Unterschiede des Heilsubstanzbedarfs vor und nach Einwirkung des Gifts.[1]) Diese Einflüsse spielen schon mit bei der Resorption einer einmaligen Giftdosis. Viel bedeutungsvoller aber kommen sie zur Geltung bei Anstellen eines Heilversuchs durch Einführung der lebenden Infektionserreger in wachsthumsfähigem Zustand, oder in Nachahmung dieser Art der Krankheitserzeugung, der Einspritzung fraktionirter Giftdosen. Will man also die Kraft des Serums bei dieser Versuchsanordnung richtig schätzen, so muss man zuerst den Einfluss dieses Faktors auf die im Versuch gegebenen Verhältnisse studiren und in Rechnung bringen.

Meine Versuche in Tabelle VI haben den Zweck, zunächst nur zur richtigen Würdigung der Heilresultate der Versuche Nr. II und III in Tabelle I, darüber Aufschluss zu geben.

Dieselben geben aber auch noch in manch anderer Richtung höchst interessante Resultate. Zunächst möchte ich auf den kolossalen Unterschied in der Reaktion der beiden verschieden empfindlichen Thierarten hinweisen. Die Meerschweinchen reagiren auf dieselben Bruchtheile ihrer Minimaldosis ausserordentlich viel stärker, als die Kaninchen. Durch geeignete Wahl dieser Bruchtheile oder der Zeit

---

[1]) Behring: a. a. O. (10). Seite 188.

zwischen den einzelnen Injektionen hätte ich sicher die beiden Reihen einander gleichwerthig gestalten können. So wie sie ausgeführt sind, scheint es mir richtig, dieselben hintereinander zu stellen. Wir bekommen dann eine einzige ziemlich scharf ineinander übergehende Reihe, an der sich die continuirliche Einwirkung verschieden grosser Giftdosen gut überblicken lässt.

An der Spitze stehen die Meerschweinchen, die jeden Tag $^1/_{10}$ Minimaldosis bekommen hatten. Sie starben, bevor noch die ganze Minimaldosenmenge recht zur Geltung kam. Auch schon der fünfzigste Theil der sonst tötlichen Minimaldosis, der an und für sich gar keine Erscheinungen machen würde, vermag bei längerer Fortsetzung der Einspritzungen die Thiere zu töten. Dieselben sind überempfindlich geworden.

Der Vergleich mit der Überempfindlichkeit tuberkulöser Meerschweinchen (Behring 12) liegt auf der Hand.

Ganz anders ist die Sache bei den Kaninchen, deren Reihe sich nun ganz gut anschliesst. Schon ein Zehntel Minimaldosis kann beliebig lange weiter gegeben werden, ohne den Tod des Thieres herbeizuführen, obwohl schon die ersten Einspritzungen heftige Tetanussymptome hervorgebracht haben. Es tritt im Gegentheil während der continuirlichen Einführung der gleichen Dosen eine Wendung zur Besserung ein, die Thiere werden unter der Weiterbehandlung mit anfangs schwer schädigenden Dosen wieder gesund, ja die vorhandenen Symptome scheinen sich bei weiter behandelten Thieren unter Umständen rascher zu verlieren, als wenn die Gifteinführung ausgesetzt wird.

Um diese eigenthümlichen Verhältnisse ganz zu würdigen, müssen wir uns die Resultate der Immunitätsprüfung in Versuch Nr. II näher betrachten. Natürlich war es nicht möglich, die absolute Höhe der Immunität des einzelnen Thieres festzustellen. Es wurde nur auf eine gewisse Grenze, auf das Überstehen der sonst tötlichen Minimaldosis geprüft. Dass die wirkliche Höhe bei einzelnen Thieren eine beträchtliche sein konnte, ergibt die Prüfung der beiden erst am 50. Tag aus Behandlung gekommenen Kaninchen (am Ende des Versuchs angeführt). Dieselben vertrugen die fünffache tötliche Minimaldosis ohne Krankheitserscheinungen.

Alle Kaninchen zeigten bis auf ein einziges eine deutliche Giftunterempfindlichkeit. Die Meerschweinchen dagegen hatten, ihrer Stellung am Anfang der Reihe entsprechend, noch keine Unterempfindlichkeit erreicht, sondern waren zum Theil wenigstens noch

deutlich überempfindlich. Den Übergang zwischen diesen beiden Zuständen bilden nun die Kaninchen der Gruppe 1. Auf sie möchte ich besonders aufmerksam machen. Das erste Kaninchen dieser Gruppe bekam dreimal $^1/_{10}$ Minimaldosis, wurde sehr krank, erholte sich aber bis zum 26. Tage wieder vollständig. Bei der Prüfung auf Immunität an diesem Tage, zeigte es keine, oder wenigstens nur eine sehr geringe Unterempfindlichkeit. Dass es nicht zu wenig absolute Giftmenge bekommen hatte, zeigt das Überstehen der Immunitätsprüfung Seitens der ersten Kaninchen der zwei andern Gruppen, die beide weniger bekommen hatten. Andererseits erreichten die andern Kaninchen derselben Gruppe, bei denen die Gifteinspritzungen fortgesetzt worden waren, eine erhebliche Unterempfindlichkeit. Die fortgesetzten Injektionen hatten also bei diesen Thieren keinen giftigen, sondern direkt einen heilsamen Effekt.

Die erste Gruppe der Kaninchen zeigt also die Giftdosis für diese Thierart an, welche zunächst nur giftige, bei weiterer Einspritzungen aber immunisirende Wirkung entfaltet.

Wenn wir nun die Resultate dieser Versuche formuliren wollen, so kommen wir etwa zu folgenden Sätzen:

Es existirt nicht allein eine verschiedene Empfindlichkeit gegen das Tetanusgift, je nach der Thierart oder nach den verschiedenen Individuen, sondern die Empfindlichkeit eines und desselben Thiers ändert sich, wenn das Tetanusgift in seinen Körper eingeführt wird. Für jede Empfindlichkeitsstufe dieses Thiers gibt es eine günstigste Giftdosis. Wird diese bei der Behandlung des Thiers annähernd getroffen, so resultirt Unterempfindlichkeit. Wird sie überschritten, resultirt Überempfindlichkeit. Diese günstige Dosis fällt bei verschieden empfindlichen Thierarten nicht mit den gleichen Bruchtheilen der Minimaldosis zusammen. Die Bruchtheile sind erheblich kleiner bei empfindlichen Thieren, als bei weniger empfindlichen.

Fast alle diese Folgerungen der obigen Versuche sind übrigens nicht erst jetzt gefunden worden, sondern sie sind längst gelegentlich der Immunisirungsarbeiten zum Zweck der Heilserumgewinnung gezogen worden und haben in den von Behring und Ehrlich ausgearbeiteten Methoden Anwendung gefunden. [1])

---

[1]) a. Zusammengestellt hauptsächlich in Behring (10): „Infektion und Desinfektion". Abschnitt B. 2 ff.

Eür die Frage der Heilungsmöglichkeit der Tetanusinfektion ist der Versuch in mehreren Beziehungen lehrreich. Zunächst zeigt er, dass die thatsächlich in den Körper aufgenommene Giftmenge bei continuirlicher Einwirkung um so kleiner ist trotz gleicher Schwere der Krankheitserscheinungen, je empfindlicher der betroffene Organismus ist. Die tägliche Einführung von 0,00000000 5 gr Test-Gift vermochte ein 250 gr schweres Meerschweichen noch innerhalb 40 Tagen zu töten. Nach den bei der Heilwerthbestimmung gemachten Erfahrungen, lässt das auch für die Heilung des Tetanus bei Infektion sehr empfindlicher Organismen günstige Resultate erwarten. Denn wir haben ja gesehen, dass die nöthige Antitoxinmenge nicht im Zusammenhang steht mit der Empfindlichkeit der Thiere, sondern mit der Grösse der eingeführten Giftmenge. Diese Erwägung wird vollständig bestätigt durch die Heilerfolge des Versuchs Nr. III, der Tabelle I. Denn als zweites Resultat der vorliegenden Versuche ergibt sich, dass wir dort eine ausserordentlich hohe fraktionirte Dosis den Meerschweinchen eingespritzt haben. Auch der fünfzigste Theil der dort angewandten Giftmenge hätte den Tod der nichtbehandelten Thiere herbeigeführt. Ferner ergibt sich noch, dass das Heilserum um so segensreicher wirkt, je weniger Kräfte der Organismus selbst in den Kampf zu führen hat. Die unempfindlicheren Kaninchen werden viel leichter die verschiedensten Grade der Tetanusinfektion aus eigenen Kräften überwinden können. Haben sie aber eine, auch für sie tötliche Infektion acquirirt, so werden viel grössere Antitoxinmengen nöthig sein, um ihnen Hilfe zu bringen.

VII.

Die experimentellen Thatsachen in Bezug auf die Ansichten über das Verhältniss von Gift und Antitoxin zu einander.

Überblickt man alle diese Resultate in quantitativer Beziehung, so wird man zugestehen müssen, dass sie sämmtlich auf eine direkte Einwirkung von Gift und Antitoxin auf einander, auch im Thierkörper hindeuten. So hat auch Behring von Anfang an und auch noch in letzter Zeit [1]) wieder, eine direkte Einwirkung des Antitoxins auf das Gift angenommen und die gegentheilige Ansicht, die be-

---

b. Siehe auch Roux: Sur les sérums antitoxiques. Pasteur Annales 1894. Nr. 10, über den Einfluss grosser und kleiner Dosen auf den Immunisirungseffekt. (13)

[1]) Behring: a. a. O. (10) besonders Seite 248.

sonders in Buchner [1]) ihren Vertreter fand, zurückgewiesen. Buchner glaubt bekanntlich, dass beide Stoffe, Toxin und Antitoxin, sowohl in Mischung im Reagenzglase, als auch im Thierkörper sich direkt unbeeinflusst liessen. Das Antitoxin habe nur die Fähigkeit, noch intakte Körperzellen vor dem Eintritt des Giftes zu schützen, also nur gewissermassen sehr schnell zu immunisiren. Mit dieser Ansicht sind, glaube ich, schon die quantitativen Verhältnisse bei Einspritzung kurz vor und kurz nach der Intoxikation unvereinbar. Ich kann mir wohl denken, dass hier eine halbe Stunde Unterschied bei einem Krankheitsverlauf von 2—3 Tagen, in der Ausbreitung der Krankheit kleine Verschiedenheiten bewirken kann, nicht aber so kolossale Unterschiede in der zur Rettung des Thiers nöthigen Antitoxinmenge. [2])

Um seine Theorie experimentell zu begründen, führte Buchner aus, dass eine Mischung, die für eine Thierart absolut keine nachweisbaren Giftspuren enthält, auch bei einer empfindlicheren Thierart keine Gifterscheinungen mehr hervorrufen dürfe. Dass dem in Wirklichkeit so ist, habe ich oben schon gezeigt (Tabelle IV). Bei der Ausführung seines Versuchs hat sich nun aber Buchner nicht an seine theoretischen Auseinandersetzungen gehalten. Er hat eine Gift-Antitoxinmischung eingespritzt, die für Mäuse nicht vollkommen ausgeglichen war, ein Theil der Thiere zeigte tetanische Erscheinungen, ein Theil starb an Tetanus und nur wenige blieben ohne Erscheinungen. Dass eine solche Mischung, die eben noch Gift im Überschuss enthielt, an den empfindlicheren Meerschweinchen ohne Rücksicht auf das Gewicht bei genügender Höhe der Minimaldosis (in Buchners Versuch für Mäuse etwa 200 fach, für Meerschweinchen etwa 70 fach) schwerere Erscheinungen macht, liegt eben an der in Tabelle IV vorgeführten eigenthümlichen Wirkungen unausgeglichener Mischungen.

Denselben Fehler begeht auch Roux [3]) in seiner sonst sehr

---

[1]) Buchner: Über Bakteriengifte und Gegengifte. Münchner medicinische Wochenschrift 1893. Nr. 24 und 25. (8)

Beruht die Wirkung des Behring'schen Heilserums auf Giftzerstörung? Berliner klinische Wochenschrift 1894. Nr. 4. (14)

[2]) Behring und Knorr: a. a. O. (5).

[3]) Roux: Sur les sérums antitoxiques Congress zu Budapest 1894 und Pasteur Annales 1894. Nr. 10. (13)

Das von Roux angewandte Gift entsprach etwa $^1/_{300}$ meines Normalgifts (1 ccm tötet 1000 Mäuse, bei mir: 1 ccm tötet 300 000 Mäuse). Also entsprach das antitoxische Serum Roux's (noch bei Mischung von 1 Theil Serum mit 900 Theilen Gift tetanische Erscheinungen) höchstens $^1/_3$ unseres Normalserums.

interessanten Arbeit. Er hat eine Mischung von Gift und Antitoxin hergestellt und das Fehlen von Giftüberschuss bei etwa 100facher Minimaldosis an Meerschweinchen geprüft. Um eine ganz sichere Entscheidung zu bekommen, hätte er eine grössere Giftdosis zur Anwendung bringen müssen. (In Tabelle IV, Versuch Nr. I ist die 20000 fache Minimaldosis gegeben.) Aber auch schon hier bekamen zwei seiner 10 Versuchsthiere tetanische Erscheinungen. Es war also seine Mischung noch nicht völlig gesättigt, konnte so die durch eigenthümliche Vorbehandlung überempfindlich gemachten Meerschweinchen tetanisch machen.

Ich glaube, das umgekehrte Faktum, dass das so sehr viel unempfindlichere Kaninchen auf nicht ganz ausgeglichene Mischungen bei genügender Höhe der Giftdosis ebenso reagirt, wie Meerschweinchen und Maus (Tabelle IV, Versuch Nr. I), ist für die Behring'sche Ansicht beweisender, als die hier angeführten Beobachtungen für eine andere Ansicht.

Mit vollem Recht erklärt auch Roux, der Beweis, dass die beiden Stoffe im Reagenzglas nebeneinander existiren könnten, müsste eigentlich dadurch geführt werden, dass man den einen oder den andern Stoff wieder zeigen würde. Dass aber ein solcher Versuch wegen der grossen Ähnlichkeit der Eigenschaften beider von vornherein ausgeschlossen sei, halte ich nicht für zutreffend. Es gibt zwei Eigenschaften des Gifts, die es wenigstens quantitativ sehr wesentlich vom Antitoxin unterscheiden. Das ist zunächst die geringe Beständigkeit in den meisten Lösungen, während das Antitoxin sich bis jetzt ausserordentlich beständig gezeigt hat; und ferner seine Empfindlichkeit gegen Hitze, die sehr viel grösser ist, als die des Antitoxins. Durch einen dieser beiden Faktoren, der das Gift nachweislich schädigt, das Antitoxin nicht, müsste zum Theil wenigstens das Gift aus Mischungen zu entfernen sein, und dadurch das Antitoxin wieder zum Vorschein hommen. Setzt man also zu hochwerthigen Tetanusculturen soviel antitoxinhaltiges Serum hinzu, dass die Mischung gerade noch etwas antitoxische Eigenschaften zeigt, so müsste nach längerer Zeit durch spontanes Heruntergehen des Giftwerths der Culturen der Antitoxinwerth wieder erheblich gestiegen sein. Ferner müsste eine Erhitzung auf etwa 60°, das Gift zum grössten Theil vernichten und ebenfalls den Antitoxinwerth der Mischung bedeutend erhöhen.

So ganz einfach ist nun allerdings der Versuch nicht. Vom Antitoxin kann zwar leicht festgestellt werden, dass Verdünnungen mit Wasser oder Bouillon keinen Einfluss auf die Haltbarkeit der Lösungen oder die Einwirkungskraft der Hitze ausüben. Beim

Gift jedoch ist die Sache ganz anders. Wie oben bereits auseinandergesetzt, hängt die Constanz der Giftlösungen sehr wesentlich von dem Medium ab, in dem sich das Gift befindet. Wir setzen hier zu den Tetanusculturen Serum hinzu, müssen also als Controlle untersuchen, welchen Einfluss der Serumzusatz an und für sich, ohne Antitoxin, auf die Constanz der Tetanuscultur ausübt. Aus Tabelle VII, Nr. 2a geht hervor, dass das Serum allein schon den ursprünglichen Giftwerth der Cultur zu erhalten vermag. Dagegen wirkt die Hitze auf solche Mischungen um so kräftiger ein. (Nr. 2 b.) Tritt nun aber zu dem gewöhnlichen Serum der Antitoxingehalt neu hinzu, so vermag weder längeres Stehen, noch Erhitzen auf 60° an dem Giftgehalt etwas zu verändern. (Tabelle VII, Nr. 3.) Es ist also das Verhalten des Gifts allein durch das Antitoxin ein völlig anderes geworden.

Es ist nicht möglich, durch sonst den beiden Körpern eigenthümliche Reaktionen dieselben wieder zu trennen.

Dass bei Erhitzen der Mischung auf 65° der Antitoxinwerth sinkt, ist schon als Einwirkung der Temperatur auf das überschüssige Antitoxin anzusehen. (Tabelle VII, 1 b.)

Der Beweis für die von Buchner vertretene Ansicht muss also noch erbracht werden.

VIII.

Vertheilung von Gift und Antitoxin im Thierkörper.

Dem steht auch eine weitere Thatsache nicht entgegen, auf die Buchner (16 b) zur Stütze seiner Anschauung aufmerksam macht. Schon von verschiedenen Beobachtern wurde constatirt, dass das Blut von Thieren und Menschen, die mit Heilserum behandelt wurden, stark antitoxische Eigenschaften für andere Organismen haben kann, während es den betreffenden Organismus doch nicht vom Tod an Tetanus retten konnte. Behring[1]) hat schon darauf hingewiesen, dass dieses Faktum eine ganz andere Deutung zulässt, als ihm von Buchner gegeben wird.

Ich glaube, wir müssen vor allem untersuchen, ob denn der Antitoxin- oder Giftgehalt des Blutes bei Tetanus einen Anhaltspunkt für die gelungene oder nicht gelungene Unschädlichmachnng des Giftes gibt. Dies ist doch nur der Fall, wenn auch wirklich beide Stoffe, wenigstens zum grossen Theil vorübergehend im Blut erscheinen. Wir wissen ja nun vom Antitoxin, dass es zunächst

[1]) Behring: a. a. O. (10). Seite 249.

ins Blut übergeht und sich ziemlich gleichmässig im Körper vertheilt. Von dem Gift wissen wir allerdings auch, dass es unter Umständen im Blut und Urin von Tetanuskranken Individuen erscheint, und schon Kitasato [1]) hat es im Blute eines an Tetanus gestorbenen Menschen nachgewiesen. In den meisten auch letal endenden Fällen wird es aber vermisst.

Über das quantitative Verhältniss der Giftmenge, die ins Blut übergeht, konnte ich in der Litteratur keine Angaben finden. Ich habe deshalb annähernd genau zu bestimmen gesucht, wie viel Gift einerseits bei subcutaner Injektion im Blut erscheint, wie viel Gift anderseits bei intravenöser Injektion im Blute bleibt. Zu dieser Bestimmung habe ich mir wieder die verschiedene Empfänglichkeit der Kaninchen und Meerschweinchen zu Nutze gemacht. Man spritzt zum Beispiel einem Kaninchen von 1000 gr Körpergewicht die tötliche Minimaldosis = 0,001 gr Test-Gift ein. Würde sich das Gift gleichmässig im ganzen Körper vertheilen, so müsste in jedem ccm Blut des Kaninchens mindestens 0,000001 gr Gift sein. Für 100 gr Meerschweinchengewicht ist aber 0,0000001 gr dieses Gifts die tötliche Minimaldosis, ich müsste also mit 0,1 ccm Blut des Kaninchens 100 gr Meerschweinchengewicht töten können. Umgekehrt kann ich aus der Menge des Blutes, die ich dazu brauche, um das Thier zu töten, ungefähr auf den Bruchtheil der Giftmenge schliessen, der wirklich ins Blut übergegangen ist. Später ergab sich mir, dass die Resultate gleich bleiben, ob ich das noch nicht geronnene Blut, oder nach der Gerinnung das Serum einspritze. Ich habe daher, wenn grössere Mengen, als 1 ccm zur Verwendung kamen, aus praktischen Gründen das Serum injicirt.

Die Versuche ergaben laut Tabelle VIII, dass bei subcutaner Injektion niemals die ganze Giftmenge im Blut auftritt, sondern nur etwa der 200te Theil. Dieser ist schon nach sehr kurzer Zeit im Blut nachzuweisen und erhält sich bis zum Tod des Thiers ziemlich konstant. Andererseits verschwindet bei intravenöser Injektion das Gift sehr rasch aus dem Blut und zwar ist schon nach vier Stunden, lange vor dem Ausbruch der tetanischen Erscheinungen der Giftgehalt stark vermindert und es wird nur ein kleiner Rest, der etwa dem 200ten Theil der ganzen eingeführten Dosis entspricht, dauernd im Blut zurückgehalten. Dieser im Blut zurückbleibende Rest scheint bei ver-

[1]) Kitasato: a. a. O. (7). Seite 304.

schieden starker intravenöser Vergiftung ziemlich derselbe zu sein. Bei subcutaner Impfung findet man bei dem gleichen Injektionsmodus um so mehr Gift im Blut, je mehr eingespritzt wurde. So kann es kommen, das weniger Gift in das Blut eines Menschen oder Thiers übertritt, als nachgewiesen werden kann. Es spielen da neben der Menge des überhaupt producirten Gifts jedenfalls die Wundverhältnisse eine sehr wichtige Rolle.

Ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten des Gifts im Blut oder dem Verschwinden desselben aus dem Blut und dem Einsetzen der tetanischen Krankheitserscheinungen konnte nicht constatirt werden.

Wir müssen also die Einwirkung des Antitoxins auf das Tetanusgift wo anders hin verlegen, als ins Blut [1]), und desshalb kann die Beschaffenheit des Bluts in den oben erwähnten Fällen nicht massgebend sein.

IX.

Zuzammenfassung der Versuchsergebnisse.

Fassen wir nun zusammen, welche Beantwortung die an die Spitze meiner Ausführungen gestellten Fragen durch die Resultate der Arbeit erfahren haben, so kommen wir zu folgenden Schlüssen:

1. Es ist bei richtiger Versuchsanordnung leicht möglich, den ausgebrochenen Tetanus auch der empfindlichsten Versuchsthiere durch genügend wirksames Tetanusheilserum zu heilen.
2. Die Heilungsmöglichkeit der Infektion bewegt sich innerhalb viel breiterer Grenzen, als die der Intoxikation durch einmalige Giftdosis. Sie hängt ab vor allem von der Menge des im Körper befindlichen Gifts, dann von der Zeit des Beginns der Behandlung.
3. Desshalb hat das Heilserum eine um so grössere heilende Kraft, je empfindlicher der Organismus ist. Bei weniger empfindlichen Individuen fallen andrerseits die heilenden Kräfte des eigenen Organismus günstig in die Waagschale.
4. Alle positiven Versuchsresultate sprechen für eine direkte Einwirkung des Antitoxins auf das Tetanusgift. Die Art der Einwirkung und der chemische Charakter der resultirenden Vereinigung sind noch dunkel.

---

[1]) Über die Resorption des Gifts vergleiche auch die Ansichten Brunners: Bruns Beiträge zur klinischen Chirurgie IX, X, XII. 1892—1894. (15)

X.

Der Verlauf der Tetanuserkrankung des Menschen im Vergleich mit dem bei Thieren experimentell erzeugten Tetanus.

Danach erübrigt nur noch die Beantwortung der letzten Frage. Können wir nun überhaupt aus den Thierversuchen Vergleiche über die Verhältnisse beim Menschen ziehen? Der Verlauf der Erkrankung des Menschen zeigt ja immerhin Verschiedenheiten von dem unserer gewöhnlichen Versuchsthiere. Sind nun diese principieller Natur, und auf welche Punkte unserer bei Thieren gesammelten Erfahrungen können sie modificirend einwirken? Ich glaube darüber besonders auf die sorgfältigen Zusammenstellungen und Experimente Brunners [1]) hinweisen zu müssen.

Derselbe theilt die Organismen in mehrere Gruppen ein, je nachdem alle in Betracht kommenden Nervenelemente derselben gleich empfindlich gegen das Tetanusgift zu sein scheinen, oder eine Elektion in dem Sinne stattfindet, dass einzelne Theile für das Gift viel leichter zugänglich sind, als die Gesammtheit. Der Mensch gehört nach seinen Ausführungen zu der letzteren Gruppe. Denn in der Medulla oblongata sollen seinen Beobachtungen zufolge für Tetanusgift besonders empfindliche Elemente sich finden. Mit dieser Thatsache bringt er das Auftreten der ersten Erscheinungen des Tetanus beim Menschen, entfernt von der Infektionsstelle, den initialen Trismus in Verbindung. Dass jedoch der Tetanus nicht immer diesen Gang nehmen muss, sondern dem beim Versuchsthier beobachteten vollständig gleichen kann, hat er bewiesen durch eine umfassende Zusammenstellung von Tetanusfällen des Menschen, bei denen die Symptome nicht zuerst als Trismus zur Beobachtung kamen, sondern wie beim Thierversuch an der inficirten Extremität begannen und zum Theil darauf beschränkt blieben.

Es würde zu weit führen, alle Erörterungen die er an diese Erfahrungen knüpft, zu besprechen. Ich möchte nur auf einige Punkte eingehen, die mir für das Verständniss dieser Unterschiede wichtig erscheinen, und die durch Versuche in meiner Arbeit uns, glaube ich, noch näher gerückt werden.

Im Anschluss vor allem an dieses eigenthümliche Auftreten des Tetanus beim Menschen in den Kaumusceln, stellt Brunner die Theorie auf, dass wenigstens bei den ungleichmässig reagirenden Organismen das Tetanusgift auf zwei Wegen wirke, einmal lokal und zu gleicher Zeit in durch das Blut verdünntem Zustand central.

---

[1]) Brunner: a. a. O. (15) und experimentelle und klinische Studien über Tetanus. Tübingen 1894.

Ich glaube, diese Ansicht, die er übrigens auch noch durch Experimente gestützt hat, findet eine weitere Erklärung durch meine Versuche in Tabelle VIII.

Es ist dort nachgewiesen, dass bei den Kaninchen nur ein ganz kleiner Theil des eingeführten Gifts im Blut bleibt oder ins Blut übergeht. Bei gleichmässig reagirenden Organismen wird dieser kleine Bruchtheil nicht in Betracht kommen, anders bei sehr ungleichmässig empfindlichen. Es wäre danach der Trismus durch den kleinen Theil des Gifts, der durch das Blut wirkt, bedingt, und könnte so, je nach den quantitativen Resorptionsverhältnissen derselben unabhängig von dem Tetanus in der betroffenen Extremität auftreten.

Dieser Auffassung stünde auch die von den Verhältnissen beim Thierversuch abweichend lange Incubationszeit nicht entgegen. Brunner erklärt die Incubatiou bei Tetanus mit einer zum Ausbrechen der Symptome nöthigen „Summation der Reize.“ [1]) Nach meiner Tabelle VI müssten daher bei gleicher Giftmenge die unempfindlichen Partien des Körpers später reagiren, als die empfindlichen. Trifft das Gift zunächst sehr unempfindliche, so wird bei diesen vielleicht durch Unterempfindlichwerden gar kein Effekt mehr zu Tage treten, die sehr empfindlichen aber können dennoch reagiren. Da nun aber nur ein kleiner Theil des Gifts, noch verdünnt durch das Blut, diese empfindlichen Theile treffen kann, so wird die Incubationsdauer eine sehr lange sein können.

XI.

Aussichten der Serumbehandlung tetanuserkrankter Menschen bei der momentan erreichten Wirksamkeit des Tetanusheilserums.

Wir haben es also offenbar beim Menschen mit einem teilweise ausserordentlich empfindlichen Individuum zu thun. Prinzipiell aber kann kein Unterschied in der Wirkung des Tetanusgift gefunden werden.

Dass der Mensch auf verhältnissmässig sehr kleine Mengen von Gift bereits reagiert, geht übrigens schon aus der im Verhältniss zum Körpergewicht meist sehr geringen Zahl von Infektionserregern hervor.

Dementsprechend ist auch die individuelle Widerstandsfähigkeit des Menschen gegen den Tetanus sehr gering. Im Durchschnitt

---

[1]) Vergleiche auch Goldscheider: Zeitschrift für klinische Medicin 1894. Bd. XXVI. Heft 1 und 2, über diese Theorie. (16)

wird die gesammte Sterblichkeit an Tetanus auf etwa 85 %, die der sogenannten akuten Form (Incubation 1—10 Tage) auf 96 % angegeben. [1]) Wir müssen also die günstigen Chancen für den Einfluss des Heilserum sehr hoch rechnen.

Um zur Behandlung des Menschen mit Aussicht auf Erfolg übergehen zu können, verlangt Behring [2]) selbst ein Serum, das soviel Antitoxin enthält, dass wir Thiere damit sicher heilen können und dass dieselbe Antitoxinmenge, auf das Körpergewicht des Menschen übertragen, ohne Schaden dem Tetanuskranken eingeführt werden kann. Haben wir diesen Antitoxingehalt mit unserm Normalserum nun schon erreicht, oder sollen wir uns nach dem Rathe Nocard's [3]) noch auf die Immunisirung beschränken?

Die Heilversuche am Anfang der Arbeit beweisen, dass wir allerdings nicht alle, aber doch eine sehr grosse Anzahl Thiere, die sonst unrettbar verloren wären, heilen können.

Die erste Bedingung Behrings ist also erfüllt durch das Normalserum. Wie steht es nun mit der Anwendung genügender Antitoxinmengen beim Menschen?

Ich will die bis jetzt veröffentlichten Fälle von Tetanus, bei denen das Heilserum mit und ohne Erfolg angewandt wurde, übergehen, weil bei den meisten nicht annähernd die von Behring verlangte Antitoxinmenge angewandt wurde, die Fälle also von vornherein weder für noch gegen die Heilungsmöglichkeit verwerthbar sind.

Einen einzigen möchte ich hier näher besprechen: Vagedes [4]) hat in neuerer Zeit einen im Institut für Infektionskrankheiten behandelten Fall beschrieben.

Es handelt sich um einen 15jährigen Jungen, der 8 Tage nach einer Verletzung die ersten Erscheinungen von Trismus bekam. Innerhalb 2 Tagen seit Beginn dieser Symptome entwickelte sich das Krankheitsbild zu beträchtlicher Höhe. Als der Knabe am 10. Tage nach der Verletzung in Behandlung trat, war bis auf die

---

[1]) Nach Rotter: Ein mit Tetanusheilserum behandelter Fall von Wundstarrkrampf. Deutsche medicinische Wochenschrift 1892. Nr. 7, und Behrings Blutserumtherapie II. 1892. (17)

[2]) Behring: Die Blutserumtherapie II. 1892. Thieme. S. 17. (18)

[3]) Nocard: Serumtherapie des Starrkrampfes in der Unterinärkunde. Referirt in Hygienische Rundschau 1895. Nr. 22, und in Münchner medicinische Wochenschrift 1895. Nr. 48. (19)

[4]) Vagedes: Über Antitoxinausscheidung bei einem mit Tetanusserum behandelten Menschen. Zeitschrift für Hygiene. 1895. Bd. 20. (20)

Arme der ganze Körper tetanisch und traten bereits häufige, allgemeine Krämpfe auf. Sogleich an diesem Tage wurde die Behandlung mit etwa 100 Antitoxineinheiten begonnen und folgten am selben Abend und darauffolgenden Morgen noch je eine Einspritzung derselben Quantität.

Bereits am folgenden Tag wurden die Anfälle seltener, und der Tetanus machte keine Fortschritte mehr. Vom 17. Tag an ist rasche Besserung verzeichnet, einen Monat nach Beginn des Tetanus völlige Genesung.

Das Incubationsstadium von 8 Tagen (nach Rotters Zusammenstellung bei Incubation von 1—10 Tagen unter 202 Fällen 8 Heilungen) und die rapide Entwicklung der Erscheinungen machen den Fall nach allen bis jetzt giltigen Regeln zu einem äusserst schweren.

Ich citire ihn aber weniger wegen des glänzenden Erfolgs, als weil hier eine nach Behrings Forderungen annähernd genügende Menge Antitoxin in der richtigen Weise zur Verwendung kam.

Die Dosis, die ich bei meinen Heilversuchen den Meerschweinchen gab, war 2 ccm auf etwa 250 gr Gewicht, also 8 ccm auf ein Kilo. Schätzen wir den 15jährigen Jungen auf 50 Kilo, so war für ihn die gleiche Dosis etwa 400 Normaleinheiten. Ungefähr 300 Normaleinheiten hat er bekommen. Auch kam diese Menge innerhalb sehr kurzer Zeit in Anwendung. Es ist also die Hoffnung berechtigt, dass die Heilungsmöglichkeit beim Menschen nicht geringer sein wird, wie beim Thier, dass es also schon heute gelingen wird, wenigstens einen Theil der schweren Tetanusfälle bei energischer, sachgemässer Anwendung des Tetanusheilserums zu retten.

Damit stehen wir aber noch nicht am Ende, sondern erst am Anfang unserer praktischen Resultate.

Infolge äusserer Verhältnisse war es bis vor kurzer Zeit nicht möglich, an grossen Thieren bei Tetanus weiter zu arbeiten. Die in der vorliegenden Arbeit angewandten Serumwerthe sind daher nicht viel höher, als vor 3 Jahren. Es muss also auch heute noch gelten, was Behring damals von den Aussichten der Serumtherapie sagte (die Blutserumtherapie 1892). Und ich kann über die weiteren Consequenzen auf diese Ausführungen verweisen. Der Weg ist also schon vorgeschrieben, den wir weiter zu verfolgen haben:

Wir müssen versuchen, zunächst den Serumwerth durch Immunisirung möglichst zu steigern. Kommen wir damit nicht mehr weiter, dann erst steht uns noch die Concentration der Antikörper zur Verfügung. Ein weites Arbeitsfeld liegt noch vor uns.

Litteratur.

1. *Behring und Kitasato:* Deutsche med. Wochenschrift 1890. Nr. 49.
2. *Kitasato:* Zeitschrift für Hygiene. Bd. 12. 1892.
3. *Tizzoni und Cattani:* La Riforma medica 1891. Nr. 183—184.
4. *Roux et Vaillard:* Pasteur Annales. Bd. 7. 1893.
5. *Behring und Knorr:* Zeitschrift für Hygiene. Bd. 13. 1893.
6. *Beck:* Zeitschrift für Hygiene. Bd. 19. 1895.
7. *Kitasato:* Zeitschrift für Hygiene. Bd. 10. 1891.
8. *Buchner:* Münchner med. Wochenschrift 1893. Nr. 24 und 25.
9. *Brieger und Fränkel:* Berliner klinische Wochenschrift 1890. Nr. 11 und 12.
10. *Behring:* Infektion und Desinfektion. Thieme 1894.
11. *Brieger:* Zeitschrift für Hygiene. Bd. 19. 1895.
12. *Vaillard und Vincent:* Pasteur Annales 1891.
13. *Roux:* Pasteur Annales. Nr. 10. 1894 und Congress zu Budapest 1894.
14. *Buchner:* Berliner klinische Wochenschrift 1894. Nr. 4.
15. *Brunner:* Bruns Beiträge zur klinischen Chirurgie IX, X, XII 1892 bis 1894 und Tübingen 1894.
16. *Goldscheider:* Zeitschrift für klinische Medicin 1894. Bd. XXVI. Heft 1 und 2.
17. *Rotter:* Deutsche med. Wochenschrift 1892. Nr. 7.
18. *Behring:* Die Blutserumtherapie II 1892. Thieme.
19. *Nocard:* Referat in Hygienische Rundschau 1895. Nr. 22.
20. *Vagedes:* Zeitschrift für Hygiene. Bd. 20. 1895.

Tabelle Nr. I.

Versuch Nr. I.

Heilversuch nach Erzeugung der Tetanuserkrankung durch Einführung einer einmaligen fertigen Giftdosis.

1. Weisse Mäuse.

Dieselben bekommen alle gleichmässig subcutan 0,2 ccm einer Verdünnung von 1:1 Million Wasser eines trockenen Tetanusgiftpulvers, von dem 1:150 Millionen Mäusegewicht sicher tötet. Nach verschieden langer Zeit bekommen alle subcutan auf die andere Seite eine einmalige Injektion von 0,5 ccm Tetanusheilserum.

a. Kleine Mäuse.

Von den 4 Controllen (15 gr, 14,5 gr und 14 gr) sind zwei nach 2½ Tagen, zwei nach 2¼ Tagen gestorben. Die ersten tetanischen Erscheinungen traten nach etwa 12 Stunden nach der Giftinjektion auf.

Nr. der Maus	Gewicht	Giftmenge auf Körpergewicht berechnet	Serum wurde nach Intoxikation eingespritzt nach	Zustand bei Injektion des Serums	Weiterer Verlauf der Krankheit
1	15,5 gr	1:77,5 Mill.	15 Stunden	Deutlich. Tetanus	Schwerer Tetanus, nach 3 Wochen noch krank, aber viel besser. † nach 4 Wochen (an Tetanus?)
2	13,5 gr	1:67,5 Mill.	21 Stunden	Ziemlich starker Tetanus	Sehr schwerer Tetanus, nach 3 Wochen noch krank, aber viel besser.
3	14,5 gr	1:72,5 Mill.	24 Stunden	Ziemlich starker Tetanus	† nach 4½ Tagen.
4	13,5 gr	1:67,5 Mill.	27 Stunden	Schwerer Tetanus	† nach 7 Tagen.
5	15,0 gr	1:75 Mill.	30 Stunden	Ziemlich schwerer Tetanus	† nach 3½ Tagen.
6	14,0 gr	1:70 Mill.	36 Stunden	Schwerer Tetanus	† nach 3½ Tagen.

b. Mittelmäuse.

Die 3 Controllen (19,5 gr, 19 gr, 18,5 gr) sind alle am Morgen des 4. Tages, also nach 3½ Tagen tot. Die ersten tetanischen Erscheinungen traten nach etwa 12 Stunden nach der Giftinjektion auf.

Nr. der Maus	Gewicht	Giftmenge auf Körpergewicht berechnet	Serum wurde nach Intoxikation eingespritzt nach	Zustand bei Injektion des Serums	Weiterer Verlauf der Krankheit
7	18 gr	1:90 Mill.	24 Stunden	Mässiger Tetanus	Ziemlich schwerer Tetanus, vom 7. Tage an chronisch. Nach 3 Wochen noch nicht ganz gesund.
8	19 gr	1:95 Mill.	30 Stunden	Ziemlich starker Tetanus	Sehr schwerer Tetanus, vom 7. Tage an chronisch. Nach 3 Wochen noch nicht ganz gesund.
9	18,5 gr	1:92,5 Mill.	36 Stunden	Starker Tetanus	† nach 3½ Tagen.
10	18 gr	1:90 Mill.	48 Stunden	Sehr schwerer Tetanus	† nach 2½ Tagen.
11	19 gr	1:95 Mill.	54 Stunden	Sehr schwerer Tetanus	† nach 2½ Tagen.

c. Grosse Mäuse.

Von den 3 Controllen ist die eine (20,5 gr) nach 3½ Tagen, die zwei andern (21,5 gr und 25 gr) nach 6½ Tagen gestorben. Die Tetanussymptome traten etwa 16 Stunden nach der Intoxikation auf.

12	21 gr	1:105 Mill.	24 Stunden	Mässiger Tetanus	Tetanus ist nicht fortgeschritten. Nach 3 Wochen gesund.
13	23 gr	1:115 Mill.	30 Stunden	Ziemlich starker Tetanus	Die Symptome sind nicht viel stärker geworden. Nach 3 Wochen gesund.
14	22 gr	1:110 Mill.	36 Stunden	Ziemlich starker Tetanus	Ziemlich schwerer Tetanus. Gesund nach 4 Wochen.
15	20 gr	1:100 Mill.	42 Stunden	Schwerer Tetanus	† nach 4½ Tagen.
16	23 gr	1:115 Mill.	48 Stunden	Schwerer Tetanus	† nach 4 Tagen.
17	24 gr	1:120 Mill.	54 Stunden	Schwerer Tetanus	† nach 4¼ Tagen.

Resultate: In der Reihe a (etwas über doppelte Minimaldosis) war Rettung noch möglich nach 21 Stunden, nicht mehr nach 24 Stunden. In der Reihe b (etwa 1½mal Minimaldosis) war Rettung noch möglich nach 30 Stunden, nicht mehr nach 36 Stunden. In der Reihe c (etwas mehr als Minimaldosis) war Rettung noch möglich nach 36 Stunden, nicht mehr nach 42 Stunden.

2. Meerschweinchen a.

Dieselben bekommen alle gleichmässig subcutan von einer Verdünnung des trockenen Gifts von 1:2 Millionen Wasser auf je 100 gr Körpergewicht 0,2 ccm eingespritzt. Das Trockengift tötet in der Menge von 1 gr 1000 Millionen gr Meerschweinchengewicht, sie bekommen also die sicher tötliche Minimaldosis. Nach verschieden langer Zeit bekommen alle subcutan auf die andere Seite eine einmalige Injektion von 4 ccm Tetanusheilserum.

Von den 2 Controllen starb die eine (225 gr) nach 5½ Tagen, die andere, (250 gr) nach 10½ Tagen.

Die ersten tetanischen Erscheinungen traten nach etwa 20 Stunden auf.

Nr. des Meerschweinchens	Gewicht	Menge der Giftlösung	Serum wurde nach Intoxikation eingespritzt	Zustand bei Injektion des Serums	Weiterer Verlauf
1	270 gr	0,5 ccm	24 Stunden	Deutl. Tetanus	Kein deutliches Weiterschreiten des Prozesses, nach 7 Tagen deutliche Besserung, nach 14 Tagen gesund.
2	250 gr	0,5 ccm	30 Stunden	Ziemlich starker Tetanus	Lokal ist der Prozess nach 24 Stunden fortgeschritten. Nach 7 Tag. deutliche Besserung, nach 14 Tagen gesund.
3	240 gr	0,5 ccm	36 Stunden	Ziemlich starker Tetanus	Nach 24 Stunden ist der Tetanus stärker, von da an stationär, nach 7 Tagen deutl. Besserung, nach 20 Tagen gesund.
4	226 gr	0,45 ccm	42 Stunden	Starker Tetanus	Nach 24 Stunden keine Veränderung. Nach 7 Tagen beginnt die Besserung. Nach 3 Wochen gesund.
5	265 gr	0,5 ccm	48 Stunden	Starker Tetanus	Nach 24 Stunden lokal starke Verkrümmung, allgemein keine Verschlimmerung. Nach 14 Tagen deutl. Besserung, nach 3 Wochen noch nicht gesund.
6	275 gr	0,55 ccm	54 Stunden	Starker Tetanus	† nach 6½ Tagen.
7	250 gr	0,5 ccm	60 Stunden	Starker Tetanus	Nach 24 Stunden Tetanus fortgeschritten, sehr bedrohliche Erscheinungen. Nach 14 Tagen beginnt rasche Besserung, nach 3 Wochen gesund.
8	240 gr	0,5 ccm	63 Stunden	Starker Tetanus	Noch mehrere Tage lang sehr schwere Allgemeinerscheinungen. Vom 10. Tage an etwa deutliche Besserung. Nach 3 Wochen nur mehr lokale Contrakturen, die sich täglich bessern.

Versuch Nr. II.

Heilversuch nach Erzeugung der Tetanuserkrankung durch Einführung von Tetanussporen, an Holzsplittern angetrocknet: Infection.

Zubereitung der Splitter: Eine 5tägige reine Tetanusbouillonkultur wurde mit 10% Kochsalz versetzt. In diese Flüssigkeit wurden möglichst gleichmässige Holzstückchen geworfen und dieselbe 1 Stunde lang auf 65° erhitzt. Die erhitzte Cultur rief in der Menge von 1 ccm keine Tetanuserscheinungen bei Mäusen hervor. Die Holzsplitter wurden getrocknet.

Die Infektion wurde so vollzogen, dass die Splitter den Meerschweinchen an der rechten Seite unter die Haut gebracht und bis in die rechte Inquinalgegend geschoben wurden.

Vorversuch: 5 Meerschweinchen bekommen je einen Splitter, um die Infektionskraft der Splitter zu erproben:

Nr. 1 im Gew. von 340 gr zeigt die erst. Erscheinungen am 3. Tag, stirbt am 7. Tag.
„ 2 „ „ „ 380 „ „ „ „ „ am 3. zu 4. Tag, „ „ 6. „
„ 3 „ „ „ 370 „ „ „ „ „ am 3. Tag, „ „ 6. „
„ 4 „ „ „ 435 „ „ „ „ „ „ 2. „ „ „ 5. „
„ 5 „ „ „ 500 „ „ „ „ „ „ 4. „ „ „ 5. „

Hauptversuch: 12 Meerschweinchen wurden, diesmal möglichst aseptisch, in gleicher Weise inficirt. Die Thiere, welche die Initialerscheinungen am schwächsten und am spätesten zeigten, wurden, als die am leichtesten erkrankten, als Controllen unbehandelt gelassen. Von den andern begann bei drei am Morgen nach Ausbruch der Erscheinungen, bei drei am folgenden Morgen, bei drei erst am 3. Morgen die Behandlung. Es wurden den Thieren jeden Tag 3 ccm Tetanusheilserum eingespritzt, und zwar auf die andere Seite gegen die Achsel zu, bis die Erscheinungen deutlich schwächer wurden.

Die ersten Erscheinungen von Tetanus waren bei der Mehrzahl der Thiere schon am Abend des zweiten Tages, bei einigen am Morgen des 3. Tages deutlich.

1. Controlle (320 gr) zeigte deutliche Tetanussymptome am Morgen des 3. Tags, starb am 8. Tag.
2. Controlle (400 gr) zeigte deutliche Tetanussymptome am Morgen des 3. Tags, starb am 8. Tag.
3. Controlle (380 gr) zeigte deutliche Tetanussymptome am Abend des 2. Tags, starb am 7. Tag.

Nr. des Thiers	Gewicht	Beginn der Behandlung nach Infektion	Zustand bei Beginn der Behandlung	Zahl der Injektionen	Weiterer Verlauf
1	350 gr	am 3. Tag	Deutl. Tetanus	5 = 15 ccm Serum	Kein Fortschreiten der Erscheinungen mehr. Nach 8 Tagen gesund.
2	285 gr	am 3. Tag	Ziemlich starker Tetanus	5 = 15 ccm Serum	Kein Fortschreiten der Erscheinungen mehr. Nach 14 Tagen gesund.
3	350 gr	am 3. Tag	Deutl. Tetanus	5 = 15 ccm Serum	In den ersten 24 Stunden etwas Fortschreiten der Erscheinungen, vom 3. Tag an deutliche Besserung. Nach 14 Tagen gesund.
4	340 gr	am 4. Tag, mindestens 36 St. nach Auftreten d. ersten Erscheinungen	Mässiger Tetanus	4 = 12 ccm Serum	Kein Fortschritt der Erscheinungen mehr. Nach 14 Tagen gesund.
5	335 gr	am 4. Tag, mindestens 36 St. nach Auftreten d. ersten Erscheinungen	Ziemlich starker Tetanus	6 = 18 ccm Serum	In den ersten 24 Stunden ziemlich starkes Fortschreiten des Prozesses. Von da an allmähliche Besserung. Nach 3 Wochen gesund.
6	295 gr	am 4. Tag, mindestens 36 St. nach Auftreten d. ersten Erscheinungen	Ziemlich starker Tetanus	1 = 3 ccm Serum	In der Nacht nach Beginn der Behandlung bereits gestorben.
7	325 gr	am 5. Tag, mindestens 60 St. nach Auftreten d. ersten Erscheinungen	Sehr starker Tetanus	2 = 6 ccm Serum	Schon nach 24 Stunden hoffnungslos, allgemeiner Tetanus. Gestorben am 6. Tag nach Infection, am 2. Tag nach Beginn der Behandlung.
8	330 gr	am 5. Tag, mindestens 60 St. nach Auftreten d. ersten Erscheinungen	Sehr starker Tetanus	5 = 15 ccm Serum	Nach 24 Stunden schwer krank, gibt eine Zeit lang durch Stillstand des Prozesses Hoffnung auf Rettung, am 10. Tag doch gestorben.
9	310 gr	am 5. Tag, mindestens 60 St. nach Auftreten d. ersten Erscheinungen	Sehr starker Tetanus	1 = 3 ccm Serum	Schon bei Injektion des Serums in hoffnungslosem Zustand, gestorben in der Nacht nach Beginn der Behandlung.

Versuch Nr. III.

Heilversuch nach Erzeugung der Tetanuserkrankung durch Einführung fractionirter Giftdosen: Nachahmung der Verhältnisse bei Infection.

Es wurde den Thieren (Meerschweinchen) in die rechte Inquinalgegend eine genau bestimmte Giftdosis eingespritzt, die Einspritzung wurde täglich wiederholt. Verschieden lange Zeit nach Auftreten der ersten Tetanuserscheinungen wurde an der andern Seite, gegen die Achsel zu, mit Seruminjektion, und zwar mit jedesmal 2 ccm begonnen. Die Gift- und Seruminjection wurden fortgesetzt, bis der Tod oder deutliche Besserung eintrat.

1. Gruppe: Bekam täglich die sicher tötliche Minimaldosis Gift eingespritzt. Die Controlle (380 gr) † am 4. Tag nach Beginn der Einspritzungen. Die ersten Erscheinungen traten bei allen Thieren innerhalb der ersten 24 Stunden auf.

Nr. des Thiers	Gewicht	Beginn der Behandlung nach Beginn der Giftinjektionen	Zustand bei Beginn der Behandlung	Gesammte Giftmenge	Gesammte Serummenge	Weiterer Verlauf
1	320gr	Gleich nach Auftreten der Erscheinungen, 24 St. nach 1. Giftinjektion	Deutl. Tetanus	9X Min.-Dos.	16 ccm Ser.	Noch 2 Tage Fortschreiten des Tetanus. Vom 4. Tage an Beginn der Besserung. Nach 14 Tagen nur mehr lokale Verkrümmung.
2	320gr	„ „	Deutl. Tetanus	9X Min.-Dos.	16 ccm Ser.	Noch 2 Tage mässiges Fortschreiten des Tetanus. Vom 4. Tage an Besserung. Nach 14 Tagen nur mehr lokale Verkrümmung.
3	310gr	„ „	Deutl. Tetanus	9X Min.-Dos.	16 ccm Ser.	Noch 2 Tage Fortschreiten des Tetanus. Vom 5. Tage an Besserung. Nach 14 Tagen nur mehr lokale Verkrümmung.
4	330gr	48 St. nach 1. Giftinjektion. Mindestens 24 St. nach Auftreten der ersten Erscheinungen	Ziemlich starker Tetanus	9X Min.-Dos.	14 ccm Ser.	Nach 2 Tagen schwerer allgemeiner Tetanus. Am 4. Tage völlig starr, starke Kiefersperre. Dyspnöe. Rasseln auf d. Lunge. Von da an Besserung d. Tetanus. Vom 8. Tage an Besserung des Allgemeinbefindens.
5	330gr	„ „	Starker Tetanus	8X Min.-Dos.	12 ccm Ser.	Bis 7. Tag Verschlimmerung, dann allmähliche Besserung. Nach 4 Wochen gesund.

Nr. des Thiers	Gewicht	Beginn der Behandlung nach Beginn der Giftinjektionen	Zustand bei Beginn der Behandlung	Gesammte Giftmenge	Gesammte Serummenge	Weiterer Verlauf
6	370gr	48 St. nach 1. Giftinjektion. Mindestens 24 St. nach Auftreten der ersten Erscheinungen	Starker Tetanus	7X Min.-Dos.	10 ccm Ser.	† am 8. Tage.
7	280gr	72 St. nach 1. Giftinjektion, 48 St. nach Auftreten der ersten Erscheinungen	Sehr schwerer Tetanus	5X Min.-Dos.	4 ccm Ser.	† am 4. Tage.

2. Gruppe: Bekam täglich die Hälfte der sicher tötlichen Minimaldosis. Die Controlle (350 gr) † am 7. Tag nach Beginn der Einspritzungen. Die ersten Erscheinungen traten bei 6 Thieren innerhalb 24 Stunden, bei 4 Thieren innerhalb 30 Stunden auf.

8	250gr	30 St. nach 1. Giftinjektion. Gleich nach Auftreten der Erscheinungen	Deutl. Tetanus	4½X Min.-Dos.	16 ccm Ser.	Am nächsten Tag unbedeutender Tetanus, ganz leichte Erscheinungen erhalten sich bis zum 8. Tag. Da völlig gesund.
9	290gr	„ „	Deutl. Tetanus	4½X Min.-Dos.	16 ccm Ser.	Ebenf. ganz leichter Tetanus. Nach 8 Tagen völlig gesund.
10	235gr	„ „	Deutl. Tetanus	4½X Min.-Dos.	16 ccm Ser.	Nach 24 Stunden lokale Verkrümmung, die erst vom 6. Tag an weicht. Nach 14 Tagen völlig gesund.
11	300gr	48 St. nach 1. Giftinjektion. Etwa 20 St. nach Auftreten der Erscheinungen	Ziemlich starker Tetanus	4½X Min.-Dos.	14 ccm Ser.	Noch 2 Tage lang Fortschreiten des Tetanus bis zu sehr heftigen lokalen Erscheinungen. Vom 10. Tag an Besserung.
12	330gr	„ „	Mässig starker Tetanus	6X Min.-Dos.	20 ccm Ser.	Noch 2 Tage lang Fortschreiten des Tetanus. Dann Besserung. Nach 14 Tagen gesund.
13	370gr	72 St. nach 1. Giftinjektion, etwa 44 St. nach Auftreten der Erscheinungen	Starker Tetanus	3½X Min.-Dos.	8 ccm Ser.	† am 7. Tage.
14	280gr	„ „	Starker Tetanus	3X Min.-Dos.	6 ccm Ser.	† am 6. Tage.
15	245gr	„ „	Starker Tetanus	2½X Min.-Dos.	4 ccm Ser.	† am 5. Tage.
16	330gr	96 St. nach 1. Giftinjektion, etwa 70 St. nach Auftreten der Erscheinungen	Starker Tetanus	4X Min.-Dos.	8 ccm Ser.	† am 8. Tage.

3. Gruppe: Bekam täglich den vierten Theil der sicher tötlichen Minimaldosis. Die Controlle (280 gr) † am 13. Tage nach Beginn der Gifteinspritzung (war bereits am 7. Tage sehr schwer krank: besonders resistent).

Die ersten Erscheinungen traten bei einem Thier innerhalb 24 Stunden, bei zwei Thieren innerhalb 30 Stunden und bei einem Thier innerhalb 48 Stunden auf.

Nr. des Thiers	Gewicht	Beginn der Behandlung nach Beginn der Giftinjektionen	Zustand bei Beginn der Behandlung	Gesammte Giftmenge	Gesammte Serummenge	Weiterer Verlauf
17	325gr	Am 2. Tage, mindestens 24 St. nach Auftreten der ersten Erscheinungen	Mässiger Tetanus	3X Min.-Dos.	20 ccm Ser.	Bis zum nächsten Tag etwas Verschlimmerung, dann rasche Besserung, nach 14 Tagen gesund.
18	430gr	Am 3. Tage, mindestens 24 St. nach Auftreten der ersten Erscheinungen	Mässiger Tetanus	3X Min.-Dos.	18 ccm Ser.	Bis zum nächsten Tage etwas Verschlimmerung, dann rasche Besserung, nach 14 Tagen gesund.
19	325gr	Am 4. Tage, mindestens 60 St. nach Auftreten der ersten Erscheinungen	Ziemlich starker Tetanus	3X Min.-Dos.	16 ccm Ser.	Bis zum nächsten Tage starkes Fortschreiten des Prozesses, besonders lokal. Vom 3. Tag an etwa Besserung. Gesund nach 3 Wochen.

4. Gruppe: Bekam täglich den fünften Theil der sicher tötlichen Minimaldosis. Die Controlle (340 gr) † am 8. Tage nach Beginn der Gifteinspritzungen. Die ersten Erscheinungen traten bei beiden Thieren innerhalb 48 Stunden auf.

20	290gr	Am 2. Tage, kurz nach Auftreten der Erscheinungen	Deutl. Tetanus	1⅜X Min.-Dos.	12 ccm Ser.	Kein Fortschreiten des Prozesses. Nach 2 Tagen bereits erhebliche Besserung, nach ca. 5 Tagen geheilt.

5. Gruppe: Bekam täglich ebenso, wie bei den 4 ersten Gruppen täglich eine Gifteinspritzung und zwar Nr. 11 täglich die Minimaldosis, Nr. 12 täglich ⅕ Minimaldosis. Nach längerer Behandlung mit Serum aber wurde dieses weggelassen und nur das Gift weiter gegeben.

Nr. 11 (335 gr) bekommt täglich Minimaldosis, wird vom 2. Tag an behandelt. Die Krankheit nimmt zu bis zum 5. Behandlungstag, da scheinbar Besserung. Jetzt wird das Serum weggelassen. Darauf nach 8 weiteren Tagen, also mit starker Verzögerung, Tod.

Nr. 12 (305 gr) bekommt täglich ⅕ Minimaldosis, wird vom 2. Tag an behandelt. Bei Beginn der Behandlung mässiger Tetanus, derselbe nimmt nicht mehr deutlich zu. Nach 2 Tagen bereits entschiedene Besserung. Nach 5 Tagen fast vollständig normal, jetzt wird Serum weggelassen und nur mehr Gift gegeben. Darauf am 2. Tage leichtes Ansteigen der Erscheinungen, dann nach 3 Tagen völlig gesund. Trotz weiterer Gifteinspritzung über 14 Tage kein neues Auftreten der Erscheinungen mehr.

Tabelle Nr. II.

Versuch Nr. I.

Prüfung des Giftgehalts des Bodensatzes aus einem mit Wasser gelösten Ammoniumsulfatniederschlag.

Etwa 3 gr trockener Niederschlag, der durch Fällung von Tetanusculturen mit Ammoniumsulfat erhalten wurde, wurden mit circa 100 ccm destillirtem Wasser gelöst. Nach kurzer Zeit setzte sich ein flockiger Niederschlag zu Boden. Die klare Flüssigkeit wurde abgegossen und dafür 0,5 % Carbolsäurelösung aufgegossen. Nach dem Absitzen wurde durch längere Zeit die klare Lösung immerfort dekantirt und durch neue, das letztemal durch destillirtes Wasser ersetzt, so lange bis das Waschwasser in der Menge von 1 ccm keine Tetanuserscheinungen mehr bei der Maus hervorrief. Dann wurde der Bodensatz mit 15 ccm 1 % Sodalösung emulsionirt und rasch den Mäusen eingespritzt. Davon

tötete 0,002 ccm eine Maus in 2½ Tagen,
0,0002 ccm machte noch mässige tetanische Erscheinungen.

Nun wurde die Emulsion filtrirt, bis sie völlig klar war. Davon

tötete 0,02 ccm eine Maus in 1½ Tagen,
0,002 ccm eine Maus in 9 Tagen,
0,0002 ccm rief noch leichte tetanische Erscheinungen hervor.

Versuch Nr. II.

Prüfung des auf verschiedene Weise gelösten Ammoniumsulfatniederschlags.

Je 0,1 gr trockener Ammoniumsulfatniederschlag wird gelöst:

1. in 10 ccm destillirtem Wasser und vor Prüfung gut umgeschüttelt;
2. in 10 ccm destillirtem Wasser und gewartet bis sich der Bodensatz vollständig abgeschieden hat;
3. in 1 % Sodalösung. Es löst sich alles zu etwas trüber Flüssigkeit und scheidet sich kein Bodensatz aus.

Alle 3 Lösungen geben bei der Prüfung an Mäusen genau den gleichen Giftwerth.

Versuch Nr. III.

Prüfung des Keimgehalts eines Ammonsulfatniederschlags.

0,1 gr trockener Niederschlag wird zu 10 ccm mit destillirtem, sterilisirtem Wasser gelöst. Nach einigen Stunden hat sich der Bodensatz gebildet: Jetzt wird die oben stehende Flüssigkeit auf Gehalt an Aeroben und Anaeroben, dann auf Sporen (durch Erhitzen auf 80°) geprüft. Ebenso der Bodensatz. Es werden jedesmal 0,3 ccm Flüssigkeit verwendet.

1. Klare Flüssigkeit nach 2 Stunden:
   Aerob: Nichts gewachsen.
   Anaerob: Wenige Tetanuscolonien. Reinkultur.
   Nach Erhitzen auf 80° weder aerob noch anaerob Wachsthum.
2. Klare Flüssigkeit nach ½ Tag.
   Weder aerob noch anaerob Wachsthum.
3. Bodensatz.
   Aerob: Mässige Anzahl Keime.
   Anaerob: Unzahl Tetanus, viel andere Keime.
   Nach Erhitzen auf 80°.
   Aerob: Nichts gewachsen.
   Anaerob: Eine grosse Menge Tetanuscolonien. Reinkultur.
4. Das Pulver wurde nicht mit Wasser, sondern mit 1% Sodalösung gelöst: Kein Bodensatz.
   Aerob: Aus 0,3 ccm Flüssigkeit 5 Colonien.
   Anaerob: Viel Tetanus, wenig andere Keime.
   Nach Erhitzen auf 80°.
   Aerob: Nichts gewachsen.
   Anaerob: Viel Tetanus. Reinkultur.

Tabelle Nr. III.

Giftwerth des Ammoniumsulfattrockenpulvers „Tetanus-Test-Gift“.

Mäuse		Meerschweinchen		Kaninchen	
Menge des Gifts auf Körpergewicht berechnet	Erfolg	Menge des Gifts auf Körpergewicht berechnet	Erfolg	Menge des Gifts auf Körpergewicht berechnet	a. subcutan eingeführt. Erfolg
1 : 16,5 Mill.	† in 1½ Tagen	1 : 50 Mill.	† in 1½ Tagen	1 : 100000	† in 1½ Tagen
1 : 32 „	† in 1½ Tagen	1 : 100 „	† in 1½ Tagen	1 : 100000	† in 1½ Tagen
1 : 65 „	† in 2 Tagen	1 : 100 „	† in 2 Tagen	1 : 100000	† in 1½ Tagen
1 : 70 „	† in 2 Tagen	1 : 250 „	† in 2¼ Tagen	1 : 100000	† in 2 Tagen
1 : 70 „	† in 3 Tagen	1 : 500 „	† in 3½ Tagen	1 : 150000	† in 1½ Tagen } 500 gr schwer
1 : 75 „	† in 2½ Tagen	1 : 500 „		1 : 150000	† in 20 Stunden
1 : 75 „	† in 2 Tagen	1 : 1000 „	† in 2½ Tagen	1 : 200000	† in 2 Tagen
1 : 80 „	† in 3 Tagen	1 : 1000 „	† in 4 Tagen	1 : 300000	† in 3 Tagen
1 : 85 „	† in 2½ Tagen	1 : 1000 „	† in 5½ Tagen	1 : 300000	† in 2½ Tagen
1 : 85 „	† in 3 Tagen	1 : 1000 „	† in 5½ Tagen	1 : 300000	† in 2½ Tagen } 500 gr schwer
1 : 90 „	† in 3½ Tagen	1 : 1000 „	† in 10½ Tagen	1 : 300000	† in 2 Tagen
1 : 95 „	† in 3½ Tagen	1 : 1250 „	† in 6¼ Tagen	1 : 500000	† in 3 Tagen
1 : 100 „	† in 2½ Tagen	1 : 1500 „	† in 10 Tagen	1 : 700000	† in 2½ Tagen
1 : 100 „	† in 3 Tagen	1 : 2000 „	Sehr krank	1 : 700000	† in 2½ Tagen
1 : 100 „	† in 3½ Tagen	1 : 2000 „	Mässig krank	1 : 1 Mill.	† in 2 Tagen
1 : 110 „	† in 3 Tagen	1 : 2000 „	Mässig krank	1 : 1 „	† in 3½ Tagen
1 : 125 „	† in 6½ Tagen (25 gr schwer)	1 : 2000 „	Mässig krank	1 : 1 „	† in 3 Tagen
1 : 140 „	† in 1½ Tagen (12 gr schwer)	1 : 2000 „	Mässig krank	1 : 1 „	† in 3½ Tagen
1 : 145 „	† in 3½ Tagen	1 : 2000 „	Mässig krank	1 : 1 „	† in 6½ Tagen
1 : 150 „	† in 4½ Tagen	1 : 2000 „	Sehr wenig erkr.	1 : 1 „	† in 7 Tagen
1 : 155 „	† in 4½ Tagen	1 : 2500 „	Mässig krank	1 : 2 „	Schwer krank
1 : 155 „	† in 11½ Tagen	1 : 4000 „	Spur Erkrankung	1 : 2,5 „	† in 7½ Tagen
1 : 160 „	Sehr krank, chron. Tetanus	1 : 4000 „	Zieml. stark. Tetan.	1 : 3 „	† in 10 Tagen
1 : 170 „	† in 3½ Tagen	1 : 50000 „	KeineSpurTetanus	1 : 5 „	Krank
1 : 260 „	Sehr krank			1 : 5 „	Mässig krank
1 : 280 „	Sehr krank			1 : 100 „	Spur Tetanus.
1 : 290 „	Sehr krank				b. intravenös.
1 : 500 „	Zieml. stark. Tetan.			1 : 100000	† in 20 Stunden
				1 : 100000	† in 24 Stunden
				1 : 200000	† in 30 Stunden
				1 : 300000	† in 30 Stunden
				1 : 300000	† in 2 Tagen
				1 : 500000	† in 2 Tagen
				1 : 1 Mill.	† in 2 Tagen
				1 : 1 „	† in 4½ Tagen
				1 : 5 „	Keine Spur Tetanus

Tabelle Nr. IV.

Versuch Nr. I.

Prüfung des Mischungswerthes des zu den Heilversuchen verwendeten Serums.

Es wurde das Serum mit der Lösung des Testgiftpulvers in verschiedenem Verhältniss gemischt und den drei Thierarten verschiedene Mengen dieser Mischung eingespritzt.

Thiergattung	Multiplum der Minimaldosis	Verhältniss von Serum zu Gift	Ausgang
Meerschweinchen	20000 X Min.-Dos.	1 : 1	† nach 2 Tagen
		1,7 : 1	† nach 3½ Tagen
		2 : 1	† nach 5 Tagen
		2,5 : 1	Leichter Tetanus, gesund nach 14 Tagen
		3,3 : 1	Keine Erscheinungen.
Mäuse	20000 X Min.-Dos.	1,7 : 1	† nach 2½ Tagen
		2 : 1	Mässiger Tetanus, gesund nach 4 Wochen
		2,5 : 1	Leichter Tetanus, gesund nach 14 Tagen
		3,3 : 1	Keine Erscheinungen.
Kaninchen	100 X Min.-Dos.	1 : 1	† nach 3 Tagen
		1,7 : 1	Sehr krank, † nach 26 Tagen
		2 : 1	Leichter Tetanus, gesund nach 14 Tagen
		3,3 : 1	Keine Erscheinungen.

Versuch Nr. II.

Prüfung des Mischungswerthes bei gleicher Zahl der Giftminimaldosen.

Das Serum wurde mit dem Gift in verschiedenem Verhältniss gemischt und den Thieren so viel eingespritzt, dass jedes Thier die für dasselbe 10 mal tötliche Minimaldosis erhielt:

Thiergattung	Verhältniss von Serum zu Gift	Erfolg
Meerschweinchen	1 : 1	† nach 2½ Tagen
Maus		† nach 4 Tagen
Kaninchen		Sehr krank. † nach 35 Tagen.
Meerschweinchen	1,7 : 1	† nach 4 Tagen
Maus		Sehr krank. Gesund nach ca. 4 Wochen
Kaninchen		Mässig krank. Gesund nach 3 Wochen.
Meerschweinchen	2 : 1	Ziemlich krank. Gesund nach 14 Tagen
Maus		Ziemlich krank. Gesund nach 3 Wochen
Kaninchen		Deutliche Erkrankung erst am 5. Tag. Gesund nach 3 Wochen.
Meerschweinchen	3,3 : 1	Bleibt völlig gesund
Maus		Bleibt völlig gesund
Kaninchen		Bleibt völlig gesund.

Versuch Nr. III.

Prüfung des Immunisirungswerthes für Mäuse bei verschiedener Zahl von Minimaldosen.

Das Serum wurde 24 Stunden vor dem Gift injicirt.

Gift: 20000 X Min.-Dos.		Gift: 200 X Min.-Dos.		Gift: 2 X Min.-Dos.	
Ser. : Gift		Ser. : Gift		Ser. : Gift	
100 : 1	Keine Erscheinungen	100 : 1	Keine Erscheinungen	100 : 1	Deutlicher Tetanus
50 : 1	Keine Erscheinungen	50 : 1	Spur Tetanus	50 : 1	Zieml.starkerTetanus
25 : 1	Keine Erscheinungen	25 : 1	Deutlicher Tetanus	25 : 1	Zieml.starkerTetanus
10 : 1	Mässiger Tetanus	10 : 1	† nach 2½ Tagen	10 : 1	† nach 2½ Tagen

Tabelle Nr. V.

Versuch Nr. I.

Die drei verschiedenen Thierarten, Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen wurden mit der für ihre specifische Empfänglichkeit gleichen Giftdosis = 10 mal Minimaldosis vergiftet. Verschiedene Zeit nachher wurde den Thieren je eine Heilserumeinspritzung gemacht und zwar den Mäusen 0,5 ccm, den Meerschweinchen 0,5 ccm und 5 ccm, den Kaninchen 5 ccm.

1. Mäuse: Controlle † in $1^1/_2$ Tagen.

Nr. des Thiers	Absolute Giftmenge	Zeit der Serumeinspritzung nach Gifteinspritzung	Menge des Serums	Ausgang
1	0,000001 gr	2 Stunden	0,5 ccm	Macht mässigen Tetanus durch, nach 3 Wochen gesund.
2	„ „	5 Stunden	„	Macht schweren Tetanus durch, nach 6 Wochen gesund.
3	„ „	8 Stunden	„	† nach $2^1/_2$ Tagen.

2. Meerschweinchen: Controlle † in $1^1/_2$ Tagen.

1	0,000003 gr	2 Stunden	0,5 ccm	Macht rein lokalen Tetanus durch, nach 14 Tagen bis 3 Wochen gesund.
2	0,0000035 gr	„ „	5 ccm	Macht rein lokalen Tetanus durch, nach 14 Tagen gesund.
3	0,000003 gr	5 Stunden	0,5 ccm	Macht ziemlich schweren Tetanus durch, nach 3 Wochen gesund.
4	0,0000035 gr	„ „	5 ccm	Macht mässigen Tetanus durch, nach 14 Tagen gesund.
5	0,000003 gr	8 Stunden	0,5 ccm	† nach $2^1/_2$ Tagen.
6	0,000004 gr	„ „	5 ccm	Macht schweren Tetanus durch, nach 3 Wochen gesund.

3. Kaninchen: Controlle † in $2^1/_2$ Tagen.

1	0,007 gr	2 Stunden	5 ccm	Macht sehr schweren Tetanus durch, nach 4 Wochen gesund.
2	0,0065 gr	5 Stunden	5 ccm	Liegt bereits am 3. Tage im Sterben. † nach $4^1/_2$ Tagen.
3	0,006 gr	8 Stunden	5 ccm	Bereits am 2. Tage hoffnungslos. † nach 8 Tagen.

Versuch Nr. II.

Die beiden Thierarten, Mäuse und Meerschweinchen bekamen die für ihre specifische Empfindlichkeit gleichen Giftdosen = 10 mal Minimaldosis eingespritzt. Alle Thiere wurden zu gleicher Zeit, zwei Stunden nach Vergiftung mit Serum behandelt und zwar mit einer einmaligen Dosis verschiedener Verdünnung.

1. Mäuse.

Nr. des Thiers	Absolute Menge Gift	Menge des Serums	Resultat
1	0,000001 gr	0,5 ccm	Macht mässigen Tetanus durch.
2	„	0,05 ccm	Macht schweren Tetanus durch.
3	„	0,005 ccm	Macht sehr schweren Tetan. durch.
4	„	0,0005 ccm	† nach $3^1/_2$ Tagen.
5	„	0,00005 ccm	† nach $3^1/_2$ Tagen.

2. Meerschweinchen.

1	0,000004 gr	0,5 ccm	Macht ganz leichten Tetanus durch.
2	0,000003 gr	0,05 ccm	Macht mässigen Tetanus durch.
3	0,000003 gr	0,005 ccm	† nach $2^1/_2$ Tagen.
4	0,0000035 gr	0,0005 ccm	† nach 4 Tagen.
5	0,000003 gr	0,00005 ccm	† nach $2^1/_2$ Tagen.

Tabelle Nr. VI.

Versuch Nr. I.

Erfolg täglich wiederholter Einspritzung fractionirter Giftdosen.

Anordnung des Versuchs: Es wurden die Thiere, Kaninchen und Meerschweinchen in verschiedene Gruppen getheilt, innerhalb derer alle Thiere täglich die, ihrer specifischen Empfindlichkeit nach gleiche Giftmenge erhielten. Das erste Thier bekam aber nur so viel Einspritzungen, bis die Gesammtmenge des Gifts dem 4. Theil der tötlichen Minimaldosis entsprach, das zweite bis zur Hälfte, das dritte bis zur ganzen Minimaldosis, das vierte bis zur $2^1/_2$ fachen Minimaldosis.

Die Gruppen selbst unterschieden sich durch den Bruchtheil der tötlichen Minimaldosis, der in der Einzeldosis zur Anwendung kam.

a. Meerschweinchen.			b. Kaninchen.		
Nr.	Zahl der Einspritzungen	Verlauf der Erkrankung	Nr.	Zahl der Einspritzungen	Verlauf der Erkrankung
Gruppe 1. Alle Tage $^1/_{10}$ Minimal-Dosis.					
1.	3 = $^3/_{10}$ Min.-Dos.	Macht sehr schweren Tetanus durch. Die Höhe des Krankheitsbildes fällt auf den 7.—10. Tag.	1.	3 = $^3/_{10}$ Min.-Dos.	Macht schweren Tetanus durch. Höhe der Krankheit vom 4.—7. Tag.
2.	6 = $^3/_5$ Min.-Dos.	Macht sehr schweren Tetanus durch. Höhe der Krankheit vom 10.—20. Tag.	2.	6 = $^3/_5$ Min.-Dos.	Macht schweren Tetanus durch. Höhe der Krankheit vom 10.—16. Tag.
3.	10 = Min.-Dos.	† am 13. Tag.	3.	10 = Min.-Dos.	Macht schweren Tetanus durch. Höhe der Krankheit vom 10.—16. Tag.
4.	11 = Min.-Dos.	† am 11. Tag.	4.	25 = $2^1/_2$ Min.-Dos.	Macht schweren Tetanus durch. Höhe der Krankheit vom 10.—16. Tag. Unter fortgesetzter Gifteinspritzung Besserung.
Gruppe 2. Alle Tage $^1/_{20}$ Minimal-Dosis.					
1.	5 = $^1/_4$ Min.-Dos.	Mässig krank, stärkste Erscheinungen am 7.—14. Tag.	1.	5 = $^1/_4$ Min.-Dos.	Unbedeutender Tetanus, stärkste Erscheinungen am 5.—7. Tag.
2.	10 = $^1/_2$ Min.-Dos.	Ziemlich schwer krank, stärkste Erscheinungen am 7.—14. Tag.	2.	10 = $^1/_2$ Min.-Dos.	Mässig krank, stärkste Erscheinungen am 5.—10. Tag.
3.	20 = Min.-Dos.	† am 24. Tag.	3.	20 = Min.-Dos.	Ziemlich schwer krank, stärkste Erscheinungen am 10.—20. Tag.
4.	23 = Min.-Dos.	† am 23. Tag.	4.	50 = $2^1/_2$ Min.-Dos.	Ziemlich schwer krank, stärkste Erscheinungen am 10.—20. Tag. Unter fortgesetzter Gifteinspritzung Besserung.
Gruppe 3. Alle Tage $^1/_{50}$ Minimal-Dosis.					
1.	10 = $^1/_5$ Min.-Dos.	Mässig krank, stärkste Erscheinungen vom 10.—20. Tag.	1.	10 = $^1/_5$ Min.-Dos.	Vom 4.—7. Tag eine Spur Tetanus. Nachher nichts mehr.
2.	25 = $^1/_2$ Min.-Dos.	Unbedeutender Tetanus, stärkste Erscheinungen vom 10.—25. Tag.	2.	25 = $^1/_2$ Min.-Dos.	Vom 4.—8. Tag leichte Tetanussymptome. Nachher nichts mehr.
3.	40 = $^4/_5$ Min.-Dos.	† am 40. Tag.	3.	50 = Min.-Dos.	Vom 4.—8. Tag eine Spur Tetanus. Nachher nichts mehr.
4.	40 = $^4/_5$ Min.-Dos.	† am 40. Tag.	4.	47 = Min.-Dos.	Vom 4.—8. Tag eine Spur Tetanus. Nachher nichts mehr. † am 47. Tage an Pneumonie.

Versuch Nr. II.

Prüfung der Thiere auf Immunität.

Am 26. Tage wurden alle Thiere, die um diese Zeit schon ausser Versuch waren, mit der sicher tötlichen Minimal-Dosis auf ihre Immunität geprüft. Controll-Kaninchen † am 4. Tag.

a. Meerschweinchen.			b. Kaninchen.		
Nr.	Zustand bei Prüfung	Verlauf	Nr.	Zustand bei Prüfung	Verlauf
Gruppe 1.					
1.	Noch eine Spur Tetan.	† am 2. Tag.	1.	Gesund.	† am 9. Tag.
2.	Mässiger Tetanus.	† am 3. Tag.	2.	Noch leichter Tetanus.	Wird ziemlich schwer krank, gesund nach ca. 3 Wochen.
3.	†		3.	Mässig starker Tetanus.	Tetanus nimmt vom 2. Tag an ab, gesund am 8. Tag.
4.	†		4.	Mässig starker Tetanus.	Der noch vorhandene Tetanus nimmt vom 2. Tag an ab, gesund am 5. Tag.
Gruppe 2.					
1.	Mässig starker Tetanus.	† am 3. Tag.	1.	Gesund.	Wiederauftreten unbedeutender Erscheinungen, gesund.
2.	Wegen Gravidität aus Versuch.		2.	Gesund.	Am 7. Tag. Zeigt kein Wiederauftreten des Tetanus.
3.	†		3.	Noch mässiger Tetanus.	Erscheinungen steigern sich nicht, gesund am 7. Tag.
4.	†		4.	Noch nicht aus Versuch.	
Gruppe 3.					
1.	Ganz gesund.	† am 3. Tag.	1.	Gesund.	Mässiger Tetanus von neuem. Gesund nach ca. 3 Wochen.
2.	Mässiger Tetanus.	† am 3. Tag.	2.	Gesund.	Von neuem leichte Spuren von Tetanus, gesund am 5. Tag.
3.	†		3.	Noch in Versuch.	
4.	†		4.	Noch in Versuch.	† am 47. Tag an Pneumonie.

Am 50. Tag Nachprüfung der beiden noch nicht geprüften Kaninchen, Nr. 4 aus Gruppe 2 und Nr. 3 aus Gruppe 3. Dieselben bekommen die fünffache Minimaldosis.

Nr. 4 aus Gruppe 2 ganz gesund bekommt 5X Min.-Dos., zeigt keine Erscheinungen.

Nr. 3 aus Gruppe 3 ganz gesund bekommt 5X Min.-Dos., vom 3.—5. Tag eine Spur Tetanus.

Tabelle Nr. VII.

Einfluss der spontanen Abschwächung (a) *und Erhitzung* (b):

1. *Auf antitoxinhaltiges Serum;*
2. *auf mit gewöhnlichem Serum gemischte Tetanusculturen;*
3. *auf mit antitoxinhaltigem Serum gemischte Tetanusculturen.*

Das Tetanusheilserum ist nicht das sonst in der Arbeit verwendete, sondern stammt von einem gegen Tetanus immunisirten Pferd und ist fast 2 Jahre in seinem Wirkungswerth gleich geblieben. Es hat den Werth von etwa $^3/_4$ Normaltetanusserum. Auch das zur Prüfung verwendete Gift ist ein anderes. Es ist etwa 5mal schwächer als das Test-Gift.

1 a. Das Serum zeigte keine Veränderung des Antitoxinwerthes beim Stehenlassen, auch nicht in Verdünnung mit Wasser oder Bouillon.

b. Der Einfluss der Hitze auf den Autitoxingehalt des Serums: Verdünnung mit Wasser oder Bouillon hatte keinen Einfluss auf die Hitzewirkung: Bei höhern Temperaturen konnte das Serum wegen der Gerinnungsfähigkeit überhaupt nur verdünnt geprüft werden.

Mischungswerth des Serums.

Unerhitzt	$^1/_2$ Stunde auf 70° erhitzt
Serum 1 : Gift 1 keine Erscheinungen	Serum 5 : Gift 1 keine Erscheinungen
„ 1 : „ 2 † nach 6 Tagen.	„ 2 : „ 1 starker Tetanus
$^1/_2$ Stunde auf 55° erhitzt	„ 1 : „ 1 † nach $1^1/_2$ Tagen.
Serum 1 : Gift 1 keine Erscheinungen	$^1/_2$ Stunde auf 80° erhitzt
„ 1 : „ 2 † nach 5 Tagen.	Serum 10 : Gift 1 keine Erscheinungen
$^1/_2$ Stunde auf 60° erhitzt	„ 5 : „ 1 † nach $1^1/_2$ Tagen.
Serum 1 : Gift 1 keine Erscheinungen	$^1/_2$ Stunde auf 90° erhitzt
„ 1 : „ 2 † nach $2^1/_2$ Tagen.	Serum 50 : Gift 1 keine Erscheinungen
$^1/_2$ Stunde auf 65° erhitzt	„ 10 : „ 1 † in $1^1/_2$ Tagen.
Serum 2 : Gift 1 keine Erscheinungen	$^1/_2$ Stunde auf 100° erhitzt
„ 1 : „ 1 mässiger Tetanus	Serum 100 : Gift 1 keine Erscheinungen
„ 1 : „ 2 † nach $1^1/_2$ Tagen.	„ 50 : „ 1 leichte Erscheinungen
	„ 10 : „ 1 † in $1^1/_2$ Tagen.

2 a. Einfluss der spontanen Abschwächung auf Tetanuskulturen, die einen Zusatz von Pferdeserum bekommen haben.

Anordnung des Versuchs: Eine Reihe ganz gleichmässig zubereiteter Tetanusbouillonculturen (0,5 % Kochsalz) wurde 14 Tage lang im Brutschrank bei 37° gehalten. Eine Probe aus mehreren Culturen ergab einen Durchschnittsgiftwerth für weisse Mäuse von 1 : 3 Millionen Körpergewicht. Darauf wurde gemischt:

Kölbchen 1.	50 ccm Cultur + 5 ccm Pferdeserum	+ 0,6 % Carbolsäure
2.	50 ccm „ + 50 ccm „	
3.	1 ccm „ + 50 ccm „	
4.	50 ccm „ + 5 ccm „	0,6 % Carbolsäure
5.	1 ccm „ + 50 ccm „	
6.	50 ccm „ + 5 ccm „	Chloroform
7.	50 ccm „ Controlle	0,6 % Carbolsäure
8.	50 ccm „ „	Chloroform.

Die Kölbchen 1, 2, 3 und 7 wurden im Brutschrank aufbewahrt, Kölbchen 4, 5, 6 und 8 im Eisschrank. Gleich nach Mischung mit dem Pferdeserum war der Durchschnittswerth der betreffenden Culturen ca. 1 : 2 Millionen Mäusekörpergewicht. Die Verdünnung durch das Serum ist dabei schon mit eingerechnet.

Nach einem Monat wurde die Serie wieder geprüft und es ergab sich folgender Giftwerth:

Kölbchen 1.	Giftwerth nicht mehr nachweisbar.	
2.	„ unter 1 : 100	mindestens ums 20000fache gefallen
3.	„ ca. 1 : 1000	ums 2000fache gefallen
4.	„ 1 : 500000	ums 4fache gefallen
5.	„ 1 : Million	höchstens um die Hälfte gefallen
6.	„ 1 : 500000	ums 4fache gefallen
7.	„ 1 : 10000	ums 200fache gefallen
8.	„ 1 : 20000	ums 100fache gefallen.

b. Jetzt wurden die Kölbchen, die noch bedeutenden Giftwerth hatten, erhitzt:

	$^1/_2$ Stunde auf 55°	$^1/_2$ Stunde auf 65°
Kölbchen 4	Giftwerth nicht mehr nachweisbar	Giftwerth nicht mehr nachweisbar
5	„ „ „ „	„ „ „ „
6	„ „ „ „	„ „ „ „
7	1 : 100 deutlicher Tetanus	1 : 100 ziemlich starker Tetanus
8	nicht mehr nachweisbar.	1 : 100 ziemlich starker Tetanus.

3. Einfluss der spontanen Abschwächung und Erhitzung auf Tetanusculturen, gemischt mit antitoxischem Pferdeserum.

Anordnung des Versuchs: Zu fertiger Tetanusbouillonkultur, die einen Giftwerth von ca. 1 : 200000 auf Mäusekörpergewicht hatte (es war 0,25 % Kochsalz zugesetzt worden), wurde auf 50 ccm Cultur 0,1 ccm Tetanusheilserum (Mischungswerth etwa 1 : 50 Millionen Körpergewicht oder = $^1/_3$ Normal) zugesetzt:

Der Giftwerth der Mischung nach Zusatz war gleich null.
Der Immunisirungswerth „ „ „ = 1 : 2000 Minimal-Dosen.
Der Mischungswerth „ „ „ = 1 : 10000 Minimal-Dosen.

Bei Verschwinden des Gifts aus der Mischung hätte steigen müssen:

Der Immunisirungswerth auf 1 : 10000 — 1 : 20000 Minimal-Dosen.
Der Mischungswerth auf 1 : 50000 — 1 : 100000 „ „

a. Einfluss der spontanen Abschwächung: Nach 2 monatlichen Stehen bei gewöhnlicher Temperatur

Immunisirungswerth = 1 : 2000 Minimal-Dosen
Mischungswerth = 1 : 10000 „ „

also unverändert.

b. Einfluss der Erhitzung nach dieser Zeit:

$^1/_2$ Stunde auf 55° erhitzt.	$^1/_2$ Stunde auf 65° erhitzt.
Mischungswerth 1 : 10000	Mischungswerth ca. 1 : 3000.

Bei Erhitzen auf 55° veränderte sich die Mischung nicht, bei Erhitzen auf 65° nahm der Antitoxinwerth nicht, entsprechend der Schädigung des Giftes stark zu, sondern, entsprechend der Schädigung des Antitoxins etwas ab.